

**EVALUACION FENOLOGICA Y DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA  
ALFALFA (Medicago sativa) EN DIFERENTES EDADES**

**Por:**

**Ing. Zoot. NELSON ANTONIO DUCHI DUCHI**

**Tesis presentada como requisito parcial para optar por el grado de  
Maestro en Ciencias**

**AREA MAYOR: Producción Animal**

**Mención: Nutrición Animal**

**Escuela Superior Politécnica de Chimborazo**

**Facultad de Ciencias Pecuarias**

**Escuela de Postgrado y Educación Continua**

**Riobamba-Ecuador**

**Abril del 2000**

**Evaluación fenológica y digestibilidad in vitro de la alfalfa (Medicago sativa) en diferentes edades. Tesis presentada por Nelson Antonio Duchi Duchi, como requisito parcial para obtener el grado de Master en Ciencias, Área Mayor Nutrición Animal, ha sido aceptada y aprobada por:**

---

M.C. Edgar Hernández Cevallos

**DECANO ENC. FACULTAD DE CIENCIAS PECUARIAS  
OPONENTE**

---

Ph. D. Oscar Romero Cruz

**TUTOR DE TESIS  
UNIVERSIDAD GRANMA-CUBA**

---

Ms. C. Vicente Trujillo

**DIRECTOR DIVISIÓN DE POSTGRADO FCP-ESPOCH**

---

**FECHA**

**COMITÉ EXAMINADOR:**

M. C. Rodrigo Proaño

M. C. Vicente Trujillo V.

M. C. Manuel Almeida G.

## DECLARACION

Los resultados de este estudio se basaron en diferentes fuentes de comprobación y en referencias actualizadas, además del análisis de laboratorio con la respectiva interpretación de resultados para validar la hipótesis, conclusiones y recomendaciones expuestas; los mismos que están sujetos a comprobación y verificación por las autoridades académicas de la **ESPOCH**. De conformidad con lo expuesto, faculto y autorizo a la ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO para que la presente investigación sea utilizada y reproducida total o parcialmente y sirva como documento para intercambio de bibliografía especializada con organismos e instituciones nacionales e internacionales dedicados a actividades: investigativas, técnicas, científicas, académicas, de extensión y productivas.

Ing. Nelson Antonio Duchi Duchi.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la vida, por permitirme existir y a desarrollar actividades que a la vez se constituyen cada día en mi reto y triunfo.

Mi profundo reconocimiento a la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ESPOCH.

A Guillermo Villalobos, Ph. D. y Oscar Ruiz, Ph. D. De la Universidad Autónoma de Chihuahua, México por el soporte académico y científico.

A mi profesor Richard Kellems, Ph. D. de la Brigham Young University, USA, por promover y estimular mi formación en el amplio campo de la Nutrición Animal como Tutor en el Curso de Especialización.

A los profesores de la Universidad de Granma, Cuba. Ph's. D. Víctor Sotto, Mario Cisneros, Mario Otero, Ángel Santana, Mariano Arean y de manera especial a Oscar Romero Tutor de la tesis de grado.

A los Ph's. D. Joan De Bouver y Leonel Fiems, científicos del área de nutrición animal del Instituto Melle Gondrode del Ministerio de Agricultura y Ganadería del Reino de Bélgica por el asesoramiento sustancial para llevar a cabo la investigación de laboratorio.

A mis compañeros de labor investigativa, Ing. Patricio Guevara, Dr. Juan Wauters e Ing. Jesús López.

Al equipo técnico del Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la ESPOCH, de manera especial a la Ing. Liliana Toscano y a los Tnlgos. Elena Urquizo e Isaías Torosina.

Al Proyecto Valoración y Optimización de Raciones para Ganado de Leche y Carne, RVV-Bélgica – FCP- ESPOCH, especial reconocimiento a su Director.

A los estudiantes de mi Facultad por ser los entes que inspiran innovación tecnológica, investigativa y científica.

Gracias por este mi avance académico e intelectual.

## **DEDICATORIA**

A Yolanda, mi compañera y a mis hijos  
Guillermo Patricio, Nelson Wladimir,  
Tatiana Marisol y Jonathan Arnulfo.

## CURRICULUM VITAE

El autor de la presente investigación nació el 1 de julio de 1967 en la ciudad de Riobamba-Ecuador.

- 1993            Graduado de Ingeniero Zootecnista, Facultad de Ingeniería Zootécnica de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, (ESPOCH).
- 1993-1996    Investigador, Área Nutrición Animal en el Proyecto “Cría y Alimentación de Ovinos en los Páramos Andinos del Ecuador”, financiado por el Reino de Bélgica.
- 1993-1996    Profesor de Nutrición Animal y Alimentación de Rumiantes, Fac. de Ciencias Pecuarias, Escuela Ingeniería Zootécnica, ESPOCH.
- 1997           Especializado en Bioquímica y Nutrición Animal, Biology and Agriculture School, Brigham Young University, Provo, Utah, Usa.
- 1998           Profesor titular de Bioquímica y Bioquímica del Músculo, Facultad de Ciencias Pecuarias, Escuela de Ingeniería Industrias Pecuarias, ESPOCH.
- 1999           Investigador, Área Nutrición Animal en el Proyecto “Valoración y Optimización de Raciones para Ganado de Leche y Carne”, financiado por el Ministerio de Agricultura y Ganadería Melle Gondrode, Reino de Bélgica.
- 2000           Profesor de Bioquímica Avanzada y Valoración Nutritiva de los Alimentos, Maestría en Producción Animal, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Técnica Estatal de Quevedo (UTEQ).
- 1997-2000    Graduado de Master en Ciencias, Programa de Maestría en Producción Animal, mención Nutrición Animal, División Postgrado FCP-ESPOCH.
- 2000-2003    Director del Proyecto “Valoración Nutritiva de Subproductos no Tradicionales en la Alimentación de Rumiantes”, financiado por el NRI-PROMSA.

## **EVALUACION FENOLOGICA Y DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA ALFALFA (*Medicago sativa*) EN DIFERENTES EDADES**

Por:

Ing. Zoot. Nelson Antonio Duchi Duchi

Maestría en Producción Animal

Facultad de Ciencias Pecuarias

Presidente: Dr. Oscar Romero Ph.D.

En el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias, de la ESPOCH, ubicada a 2740 m.s.n.m. con una temperatura media de 12,80° C, humedad 66% y con una precipitación anual de 723,60 mm se evaluó la digestibilidad in vitro de la alfalfa variedad WL en diferentes edades (35, 42, 49, 56, 63, 70 días), el estudio de la fenología fue para diferenciar algunas consideraciones de producción y calidad nutritiva de la planta. La floración no es un indicador para realizar la cosecha, se obtuvo 11,58% al día 63 lo cual estuvo relacionada con la baja relación de hojas/tallo 0,58 esto afecta la calidad de la alfalfa; la máxima producción de MS al día 56 con 73,86 g/m<sup>2</sup> tuvo alta significancia  $p < 0,01$ . La alfalfa expresó su potencial nutritivo en los primeros estadios, la concentración de PB fue mayor en el día 35 con 21,67% disminuyendo lentamente hasta el día 63, la FB resulto inversamente proporcional a la PB, la concentración se incrementa desde 29,02 a 33,19% entre los 35 al 63 día, el aporte de EM en MJ/kg MS fue mayor al día 35 con 10,21 disminuyendo con la edad pero la calidad interpretada como su metabolibilidad no tuvo diferencias en función de la edad. Los métodos de laboratorio Telly y Terry y Pepsina-Celulasa tienen su soporte para simular los procesos digestivos a nivel de laboratorio. La DIVMS (Telly y Terry). Con 75,73% en el día 35 es el mayor valor con una alta diferencia estadística  $p < 0,01$  disminuyendo conforme avanza la edad, la DIVMO tiene la misma tendencia con 73,71 a 64,47% en los días 35 y 63 respectivamente. En tanto la DIVMSC (Pepsina-Celulasa) tuvo un valor 79.60% ligeramente superior al

obtenido por el otro método, sin embargo la tendencia es similar pero con una alta significación estadística entre periodos  $p < 0,01$ , la DIVMOC el comportamiento es idéntico a la digestibilidad de la MS ( $p < 0,01$ ); al día 70 al estudiar estas variables se noto un incremento de digestibilidad debido a la nueva planta, es necesario disponer de datos in vivo o estándares para corregir los valores in vitro, la correlación de la DIVMS con DIVMSC fue  $r = 0,820$  y DIVMO con DIVMOC tuvo una correlación  $r = 0,793$ . El grado de asociación entre variables de fenología, calidad y valor nutritivo permitió realizar modelos matemáticos de predicción.



## ABSTRACT

In the Laboratory of Animal Nutrition of the Animal Sciences School, of the ESPOCH, located 2740 m.a.s.l. with a average temperature of 12,80°C, humidity 66% and annual precipitation of 723,60 mm the in vitro digestibility of the alfalfa variety WL was evaluated in different stages (35, 42, 49, 56, 63, 70 days), the study of the fenologic stage was to differentiate some production considerations and nutritive quality of the plant. The floración is not an indicator to carry out the harvest, 11,58% was obtained to the day 63 that which was related with the rate of leaf/steam 0,58 this affects the quality; the maximum production of DM at 56 day with 737,86 g/m<sup>2</sup> had high significance  $p < 0,01$ . The alfalfa expressed its nutritive potential in the first fenologic stage, the concentration of CP was best in the 35 day with 21,67% decrease slowly until 63 day, the CF is inversely proportional to the CP, the concentration is increased from 29,02 to 33,19% between 35 to 63 day, the contribution of ME in MJ/kg DM was best to the 35 day with 10,21 decreasing with the age but the quality interpreted as its metabolicidad didn't have differences in function of the age. The laboratory methods Telly &Terry and Pepsin-Cellulose have their support to simulate the digestive processes at laboratory. The DMIVD (Telly & Terry) with 75,73% in the 35 day is the biggest value with a statistic difference  $p < 0,01$  decrease as the age, the OMIVD has the same tendency with 73,71 to 64,47% in the 35 and 63 days respectively. The CDMIVD (Pepsin-Cellulose) had a lightly value 79.60% obtained by the other method, however the tendency is similar but with a high statistical significance  $p < 0,01$ , the COMIVD had identical tendency to the DM digestibility ( $p < 0,01$ ); on the 70 day when studying these variables there is a little increment of the digestibilidad due to the new plant, it is necessary to have data from in vivo or standards samples to correct the values in vitro, the correlation of the DMIVD with CDMIVD was  $r = 0,820$  and OMIVMD with COMIVD had a correlation  $r = 0,793$ . The association degree between variable fenologics, quality and nutritive value allowed to carry out mathematical models of prediction.

## CONTENIDO

	Página
RESUMEN	vi
ABSTRACT	vii
CONTENIDO	ix
LISTA DE CUADROS	x
INTRODUCCIÓN	1
REVISION DE LITERATURA	3
Características fenológicas y de composición química de la alfalfa	3
Digestibilidad in vitro como criterio para la valoración nutritiva de	
Los alimentos	17
Sistemas actuales de valoración energética de los alimentos	19
MATERIALES Y METODOS	23
Localización y duración del experimento	23
Unidades experimentales	23
Equipos y materiales	23
Tratamiento y Diseño Experimental	25
Mediciones experimentales	27
Análisis estadístico	29
Procedimiento experimental	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
Evaluación fenológica de la alfalfa	36
Composición química de la alfalfa	40
Contenido de energía de la alfalfa	44
Digestibilidad in Vitro de la materia seca (DIVMS) y materia orgá-	
nica (DIVMO), Telly y Terry	47
Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMSC) y materia orgá-	
nica (DIVMOC), Pepsina-Celulasa	49
CONCLUSIONES	56
RECOMENDACIONES	58
BIBLIOGRAFÍA	59

## LISTA DE CUADROS

Nº	Página
1. COMPOSICION QUÍMICA (% EN BASE) DE LA ALFALFA EN DIFERENTES ESTADOS FENOLOGICOS	14
2. ANALISIS PROXIMAL DE LA ALFALFA DESDE EL DIA 46 HASTA EL DIA 76	16
3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DEL AREA DE ESTUDIO	24
4. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA EVALUACIÓN FENOLOGICA	26
5. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO TELLY-TERRY Y PEPSINA CELULASA	26
6. VALOR NUTRITIVO Y ENERGETICO DE LA ALFALFA	28
7. ESQUEMA DEL ADEVA PARA FENOLOGIA	30
8. ESQUEMA DEL ADEVA PARA DIGESTIBILIDAD IN VITRO	30
9. EVALUACION BOTANICA DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES	39
10. COMPOSICION QUIMICA DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES	43
11. CONTENIDO DE ENERGIA DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES	46
12. DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES	48
13. CORRELACION PARA PREDECIR DIGESTIBILIDAD DE LA MS Y MO ENTRE LOS DOS METODOS DE LABORATORIO	51
14. MODELOS MATEMATICOS PARA PREDECIR LA CALIDAD Y VALOR NUTRITIVO DE LA ALFALFA EN DIFERENTE EDAD	52

## INTRODUCCION

El desarrollo tecnológico y agroindustrial del país en los últimos años ha tenido logros y avances de relieve científico, básicamente la ganadería en función de la agricultura tradicional pero en los actuales momentos en términos de producción orgánica y ecológica basados en los principios de sustentabilidad y sostenibilidad, conceptos que merecen reflexión “estamos en la época de cambio o cambio de época” pues relativamente la producción agrícola y pecuaria camina en el cambio de época. Sin embargo algunas particularidades netas en la productividad zootécnica no ha superado determinadas limitantes esto se debe por un lado a la oferta de insumos entre ellos semillas forrajeras o variedades diferentes en cada año, adicional a este factor el manejo de pasturas y la deficiente conceptualidad en la utilización del balance forrajero como herramienta clave en el equilibrio nutritivo de cualquier propósito productivo.

La alfalfa es la base forrajera en la producción lechera y en otros tipos de producción con diferente especie animal en la región interandina del Ecuador, su utilización esta dada por el propio criterio del ganadero y por la casa productora muchas veces esta leguminosa en cuanto a su comportamiento productivo resulta muy variable, lo cual esta en función del tipo de suelo, temperatura, pluviosidad entre otros factores climáticos. La presente investigación estuvo dirigida para conocer la evolución fenológica como un indicador en la variación botánica, calidad y valor nutritivo. La calidad de la alfalfa depende primariamente de la edad de la planta, pero a más de los indicadores netos de composición química como es proteína y fibra. La cosecha debe guardar relación con la concentración de fibra detergente neutra (FDN) así debe ser cosechada con un 40% de FDN cuando va a ser utilizada en vacas lecheras, este nivel se consigue cuando el forraje esta entre 45 a 55 días de edad y la PB debe estar alrededor de 18% Allen et al (1996).

Las variedades de alfalfa de última generación tienen un alto vigor y crecimiento vegetativo muy acelerado que los intervalos de cosecha se ven reducidos a 35 y 40 días, con una producción de material de buena calidad,

además estas alfalfas aceleran su proceso de almacenar reservas para optimizar renuevos de excelente comportamiento Morgan (1997).

El objetivo fundamental de este estudio es a más de llegar a estandarizar las metodologías de digestibilidad in vitro y digestibilidad por celulasa; es conocer la composición química y valor energético de la alfalfa, comparar dos métodos de laboratorio Telly y Terry (1963) y Pepsina-Celulasa en la determinación de la digestibilidad in vitro de la materia seca (MS) y materia orgánica (MO) de la alfalfa en diferente edad de corte; aun cuando se planteo que no existiría interferencias en la calidad nutritiva y digestibilidad por efecto del estado fenológico de esta leguminosa. Las características de los métodos in vitro es que permiten cuantificar y/o comparar la digestibilidad en un gran número de muestras con una gran precisión, la preparación de reactivos o cultivos de microorganismos en una misma cantidad garantizan que no existan diferencias entre la digestión simulada, los métodos in vitro son buenos predictores de digestibilidad de los forrajes Baldwin (1984).

El alcance obtenido en esta investigación va a facilitar la utilización de las ecuaciones matemáticas para estimar o predecir indicadores de fenología, composición química, aporte de energía, digestibilidad in vivo, in vitro esencialmente.

## REVISION DE LITERATURA

### **Características fenológicas y de composición química de la alfalfa**

La alfalfa constituye una de las 12 especies “forrajeras” de mayor importancia. Esta leguminosa en la zona interandina del Ecuador resulta el alimento por siempre promisorio en la alimentación del ganado con preferencia en la ganadería lechera de clima templado y frío templado. En el mundo tiene una amplia difusión, muchos países mantienen ecotipos y un sin número de variedades se han diseminado sobre la base del incremento de la tecnología, hoy se cuenta con avances en la transgénesis e ingeniería genética lo cual ha permitido una producción por unidad de superficie cada vez más interesante en función de cada variedad. Particularmente su origen es Asia menor y Sur del Cáucaso; extendiéndose a Grecia, como consecuencia de las guerras médicas hace 470 años AC, siendo la palabra medica como base en la denominación de su género botánico (Medicago).

Posteriormente los romanos hasta nuestros días han logrado diseminar la alfalfa como una forrajera de mayor impacto en la alimentación del ganado. Estados Unidos ha desarrollado líneas investigativas en pastizales y particularmente existen organizaciones y compañías como por ejemplo la Western Morgan's Hay Alfalfa que investiga y produce variedades de esta leguminosa. En nuestro país la difusión de la alfalfa tiene una marcada aceptación de variedades como SW 8210, abunda verde, WL 605 y 610, granada las cuales por versión de los ganaderos se han adaptado bien y que su potencial productivo justifica para establecer pastizales en base a estas variedades de alfalfa.

**Raíz.** Mokeyeva (1969), manifiesta que la raíz primaria emerge cerca del hilio y penetra en el suelo como una raíz principal sin ramificaciones. A medida que se endereza y alarga el área del hypocótilo, las hojas cotiledonares emergen del suelo. En términos de producción de material verde existe características disposición de una raíz pivotante y una penetración profunda de la raíz en el suelo permite que la planta no sufra de stress hídrico La primera hoja verdadera o foliar es simple, con un pecíolo delgado. La lámina es generalmente obcordiforme u orbicular. Las hojas verdaderas posteriores son

compuestas y generalmente trifoliadas. Las yemas vegetativas se desarrollan en las axilas de las hojas cotiledonares y las siguientes hojas verdaderas.

**Tallo primario.** Mokeyeva (1969), expresa que el tallo primario es casi cuadrado en su sección transversal, con los haces mayores del tallo situados en los ángulos del eje y los haces menores entre medio. Todos los haces son colaterales y está encasquetados con fibras peri cíclica que con los elementos lignificados del xilema y de las células colenquimáticas situadas en el área cortical, proporcionan un sostén mecánico.

El centro del tallo esta ocupada por las células parenquimáticas medulares y relativamente grandes, dispuestas de manera compacta, unidas a una área de la corteza por radios corticales. La corteza esta ligada en su parte interna por la endodermis que se reconoce nutricionalmente por su contenido de almidón y casi siempre por cristales de oxalato de calcio y que aparecen tardíamente en la ontogenia. Los cloroplastos se desarrollan en las células corticales entre el colénquima y la endodermis. La epidermis está formada por células alargadas en sentido irregular. Puede presentarse dos tipos de pelos: él más frecuente es un tricoma unicelular, delgado y alargado, similar a los que se encuentran en las hojas, en tanto que el segundo tipo es glandular.

Los cloroplastos se desarrollan en las células corticales entre el colénquima la endodermis, pero este tejido se halla frecuentemente interrumpido en los lugares donde predomina el desarrollo colenquimático. La epidermis está formada por células algo alargadas en el sentido axial y de forma irregular. Se desarrollan muchas estomas con sus paredes externas menos cutinizadas que otras células epidérmicas. Janson (1982).

**Tallos Adventicios.** Sheaffer (1988). Dice que los tallos adventicios se originan por lo común en la misma área general de donde provienen las raíces principales, de este modo, comenta, que los tejidos vasculares (estelares) de la raíz primaria, laterales y del tallo adventicio pueden llegar a ser más o menos comunes en el nivel de origen.

**Tamaño y número de vástagos vegetativos.** Frakes (1961), observó que la productividad del cultivo de alfalfa guarda relación con el número de tallos por unidad de superficie. Sin embargo, la alfalfa tiene la extraordinaria

capacidad de adaptar el número de tallos, según la densidad y competencia entre las plantas existentes. A toda disminución en el cultivo, debido a prácticas culturales, sigue invariablemente un aumento del número de tallos por planta, lo cual compensa en parte, por lo tanto, la reducción del número de plantas. Se observó un aumento del número de tallos de las plantas expuestas a la luz solar y con una baja densidad.

La relación entre el número de tallos por planta y los diversos factores ambientales son evidentemente complejos, esto indicaba que los factores externos pueden desempeñar un papel bastante ínfimo en la regulación del número de tallos, ya sea por planta o por unidad de superficie. Las condiciones fisiológicas y el estado de desarrollo de la planta en el momento de la iniciación del tallo influyen sobre el número de tallos por planta.

Leach (1969), registró que el grado de defoliación o la altura de corte tenían un efecto directo sobre el número de tallos que después desarrolla la planta, porque casi todo el desarrollo de los tallos de las plantas en estado de rastrojo proviene de las yemas axilares. Si no queda ningún rastrojo, el desarrollo de los tallos se produce a partir de las yemas de la corona y da como resultado menor número de tallos y rebrote retrasado

El número de tallos que emergen y dan lugar a la nueva planta están directamente relacionados con el tipo y variedad debido a que su mejora genética diferencia estirpes para las condiciones de pastoreo o corte, en el primer caso el número de tallos es mayor comparado con las tipo corte que tienen menos tallos inclusive el diámetro y ubicación de la corona son diferentes Simons (1984).

**Las Hojas.** Janson (1982), acerca de las hojas estudio que los tallos de la alfalfa son muy ramificados y delgados y tienen hojas compuestas trifoliadas. Es común que existan hojas con más de tres folíolos. Las hojas están dispuestas en fitilaxis alternada, con estípulas delgadas, adheridas al pecíolo. Los folículos son lineales, oblongos y dentados hacia el ápice. En cada folículo la nervadura central o principal se extiende a lo largo de la lámina y forma un borde prominente sobre la superficie abaxial. Las ramificaciones laterales se distribuyen en forma pinnada a partir de esta y, a su vez, las de las



divergencias laterales forman un sistema de nervaduras en forma de red, en la cual los pequeños extremos distales del tejido vascular terminan en el mesófilo foliar. La mayoría de las nervaduras laterales presentan una vaina desarrollada con células estructurales de gruesas paredes, con un desarrollo menor hacia los extremos. Algunas nervaduras menores están rodeadas por células parenquimatosas y sus nervaduras terminan en elementos xilemáticos engrosados y espiralados. Los elementos vasculares son idénticos a los del tallo.

Mokeyeva (1969), indica que la alfalfa tiene hojas compuestas trifoliadas, siendo muy común que tenga hojas con mas de tres foliolos, siendo estos lineales, oblongos u obovado oblongos y son dentados hacia el ápice. En cada foliolo la nervadura central o principal se extiende a lo largo de la lámina y forma un borde prominente sobre la superficie abaxial. Las ramificaciones laterales se distribuyan en forma pinnada a partir de ésta y, a su vez, las de las divergencias laterales forman un sistema de nervaduras en forma de red, en la cual los pequeños extremos distales de tejido vascular terminan en el mesófilo foliar, que consiste en células alargadas en empalizada y células esponjosas, y ambos espacios poseen espacios aéreos, muchos de los cuales continúan con los poros de los estomas. Una cutícula delgada cubre la epidermis superior. Las primeras hojas verdaderas jóvenes tienen un mesófilo rodeado de epidermis; otras hojas de la planta maduras presentan un mayor número de células mesófilas.

Dentro de los aspectos que más influye en la calidad de la alfalfa se encuentra la proporción de hojas, la misma que tiende a disminuir a medida que envejece la planta acelerándose en los últimos días disminuyendo de 50.17 % en el día 46 hasta 42.95 % en el día 76. Esta disminución es uno de los factores más determinantes en la disminución de calidad de un alfalfar, la proporción de hojas tiene una marcada influencia sobre la concentración de proteína bruta López (1998).

**La Corona.** Hayward (1972), encontró que no emergen yemas de la raíz y solo incluye porciones perennes del tallo en la corona. Esta sin embargo no es una estructura simple ni única, sino que es una área que incluyen varias

estructuras separadas, cuando la mayor parte del eje es de origen secundario, las descripciones anatómicas antes mencionadas son de poca utilidad. La delimitación morfológica exacta de la corona tiene muy poca importancia, además las partes básicas de las partes involucradas, es razonable suponer que la sequía, el frío invernal, una serie de prácticas culturales, el vigor general de las plantas y la edad influyen en la cantidad y tipo de partes vegetativas que hay en la corona

Mokeyeva (1969), indica que consiste en la porción perenne del tallo. Si el eje primario en el nivel de los cotiledones y las primeras hojas verdaderas está enterrado como resultado de las prácticas culturales, la corona puede desarrollarse a partir de un área mas alta del eje en este tópico Hayward (1972) indica que no emergen yemas de la raíz y solo incluye porciones perennes del tallo en la corona. Esta, sin embargo no es una estructura simple ni única, sino que es un área que incluye varias estructuras separada, el vigor general de las plantas y la edad influyen en la cantidad y tipo de partes vegetativas que hay en la corona.

**Crecimiento vegetativo.** Frakes (1961), indica que antes del desarrollo de cultivares resistentes al marchitamiento y al frío se asignaba una fundamental importancia a los procedimientos de manejo que daban como resultado mayores rendimientos en forraje en momento en que las plantas están en plena floración. Los cultivares resistentes al marchitamiento y al frío ha cambiado la filosofía del manejo y han orientado la atención hacia cosechas más anticipadas y frecuentes. Los cultivares que presentan crecimiento vegetativo rápido, además de ser resistentes al marchitamiento y al frío dan resultados muy productivos. Los estudios genéticos realizados han demostrado que la altura, el grosor y del número de tallos depende del vigor de la planta. El poco crecimiento de la planta y las consecuentes disminuciones en el rendimiento del forraje, son aspectos que se aprecian enseguida cuando los causan ciertos factores como la baja fertilidad, la falta de humedad del suelo o las plagas. Sin embargo hay efectos más sutiles de las fluctuaciones de la temperatura, la humedad o la radiación, que generalmente pasan inadvertidos. Otro aspecto importante de la relación entre el medio y el

rendimiento es el papel que desempeñan estos factores en la distribución de las sustancias asimiladas respecto de las diversas funciones de crecimiento, como son la expansión foliar, el alargamiento de los entrenudos, el desarrollo floral y la acumulación de hidratos de carbono en el tejido radical.

**Porcentaje de floración.** López (1998), estudió que al día 61 de corte la floración alcanzó 5 % con un máximo de 50 % al día 76 de corte. Con estos valores encontrados concluyó que el porcentaje de floración no es un indicador tan claro para la realización del corte de la alfalfa, y se contradice a lo que generalmente se conoce que el corte se lo debe realizar cuando la parcela de alfalfa esta con un 10 % de floración, variable que puede verse influenciado por otros factores ambientales ajenos a la planta.

**Producción y persistencia de la alfalfa.** Hodgson (1976), manifiesta que los parámetros producción y persistencia son los pilares sobre los cuales se han apegado tradicionalmente la selección y/o mejoramiento de las especies forrajeras perennes (gramíneas o leguminosas). En el caso de la alfalfa el parámetro persistencia ha dominado al de producción directa o indirectamente. En el primero de los casos a través de planes de mejoramiento, en el segundo a través del sistema de pastoreo que hasta no hace mucho tiempo en la casi totalidad de los casos era continuo. Normalmente cuando de seres vivos se trata la mayor producción va asociada a mayores requerimientos, de allí que el resultado de un mal manejo durante un largo período de años, será una población con muy buena persistencia y sanidad pero de baja productividad.

**El corte de la alfalfa.** Eraso (1985), manifiesta que el corte oportuno, hecho a tiempo, permite cosechar toda la energía que la alfalfa produce, por cada día de retraso tras la floración, su valor nutritivo disminuye el 1%. Recomienda hacer el corte cuando el 10 % del alfalfar esté en floración. Los cortes frecuentes, antes de la época recomendada, disminuyen las reservas en las raíces, aumenta la susceptibilidad de la planta a las altas temperaturas y deja a las plantas más expuestas al ataque de enfermedades. Es importante dar el corte cuando el suelo dispone de suficiente humedad para que rebrote sin dificultades.

En contraposición Veronesi et.al (1986), propuso que para pastorear un alfalfar se debe tomar en consideración el tamaño de los rebrotes de la nueva planta lo cual esta estrechamente relacionado con la variedad, pero que generalmente las alfalfas de última generación tienen un aprovechamiento precoz y de la misma manera la altura de sus rebrotes esta ligada al desarrollo o fase fenológica es decir que la cosecha o pastoreo debe realizarse entre 2 a 5cm como máximo de la altura de los nuevos rebrotes capaz de no dañar la nueva planta.

En la actualidad algunos ganaderos de la zona de estudio tienen criterios técnicos y prácticos de la dinámica y manejo de pasturas, para esto la floración no es un buen predictor de cosecha o el indicador específico en el tiempo óptimo de corte o pastoreo, ellos toman en consideración la altura de meristemas (2-4 cm.) para el pastoreo que generalmente esta entre 28 a 35 días de edad de la alfalfa, en este estadio de fenología la reserva nutritiva de la planta es mayor por lo tanto se obtiene alimento de buena calidad. Sin embargo han detectado leves inconvenientes con la persistencia de la pradera, esto se debe a la exigencia productiva sin tomar en consideración otros factores necesarios para mantener el vigor de la planta y podemos mencionar como la edad de corte entre los factores de mayor influencia debido a que ha esta edad la planta tiene su comportamiento vegetativo neto y tiene una escasa efectividad de destinar o devolver constituyentes a su reserva neta para la generación de una nueva planta o actividad reproductiva.

Del Pozo (1983), menciona cuando es cosechada la planta se elimina la cubierta vegetal en función de la altura de corte queda la planta desprovista de su cobertura basal, quedando determinados tallos acompañados de una cierta cantidad de hojas; pero el área foliar es escasa. Las escasas hojas que quedan en la planta son insuficientes para sintetizar material con que atender a las necesidades respiratorias y al correspondiente al rebrote. Este rebrote supondrá más rápida emisión de hojas, con lo que la capacidad fotosintética de la planta se aumenta a gran ritmo.

#### **Relaciones entre velocidad de rebrote y posición de meristemas.**

Jewiss (1967), manifiesta que las ventajas de un rápido rebrote para lograr una

rápida y completa interceptación de la luz, son bien conocidas esto quiere decir que la velocidad de rebrote dependerá en gran medida de la posición de los meristemas que dan origen a nuevas hojas. El rebrote después del corte en gramíneas en estado vegetativo y en leguminosas tipo trébol blanco en estado vegetativo o reproductivo es relativamente rápido porque los ápices del tallo no son dañados ya que se encuentran cerca del nivel del suelo y en el momento del corte esos meristemas ya han producido nuevas hojas que continúan expandiéndose sin interrupción. En contraste, los meristemas terminales de leguminosas tipo alfalfa en estado vegetativo o reproductivo están cerca de la parte superior de la pastura debido a la elongación de los tallos. El rebrote provendrá de meristemas axilares en la base del tallo, de meristemas accesorios de la corona y de tallos que no se haya elongado suficientemente como para ser decapitados, pero estos serán muy escasos en la mayoría de las variedades de alfalfa debido al crecimiento cíclico de esta especie. Inevitablemente va a ocurrir algún retraso en el rebrote mientras que estos meristemas dormidos hasta el momento del corte, se pongan en actividad. Es necesario aclarar que la posición y número de meristemas de crecimiento que intervienen en el rebrote no son los únicos factores que afectan el rebrote, sino que este también depende de la cantidad de material fotosintético remanente en el rastrojo y de las reservas de carbohidratos de la base de tallos, estolones y coronas. Además el rebrote depende del medio ambiente. Sin embargo, con los elementos de juicio hasta aquí presentados podemos afirmar que tanto leguminosas tipo trébol blanco como gramíneas en estado vegetativo se adaptan a defoliaciones frecuentes, mientras que leguminosas tipo alfalfa requieren un manejo de defoliación concordante con su ritmo cíclico de producción de tallos, pues si bien es cierto que por medio de la remoción temprana de una tanda de tallos, se estimula el comienzo del crecimiento de la próxima tanda, este tipo de manejo resultará en bajos rendimientos. Esto se debe a que por un lado estamos perdiendo la producción potencial de tallos que aún no completaron su elongación y por el otro estamos forzando a la planta a comenzar un nuevo ciclo de crecimiento cuando aún no está preparada fisiológicamente para ello.

**Número de Meristemas.** López (1998), estudió que es necesario indicar que no todas las plantas tenían el mismo tamaño de corona, factor que va a influir directamente en el número de meristemas por planta y al revisar los valores de los tratamientos estudiados se aprecia que del día 46 al día 49 el número de meristemas es bajo, con un promedio de 1,7 y 4,4 meristemas respectivamente. Del día 52 al día 58 vemos que el número aumenta y se encuentran 15 meristemas en promedio en los tres tratamientos, en los subsiguientes tratamientos el número aumenta para en el día 76 alcanzar un número de 22.8 meristemas/planta en promedio.

**Altura de Meristemas.** La altura de los meristemas sigue una tendencia lineal a medida que la planta madura y se comprobó que en el día 46 el promedio de altura de los meristemas es de 0,5 cm, en el día 49 se duplica la altura, del día 52 al día 55 tienen una altura promedio de 1,50 cm, 2,4 cm para el día 58, 3,25 cm para el día 61, 3,2 cm para el día 64, 6 cm en el día 67, 8 cm para el día 70; 6.6cm para el día 73 y 10,6 cm para el día 76. Al analizar esta variable vemos que tiene una alta correlación con el día de corte (0,940), debemos considerar que cuando los meristemas superan los 2 cm de altura estos son cortados junto con los tallos viejos y no generan una nueva planta, sino que el rebrote dependerá de nuevos meristemas de reserva que se encuentren a menor altura, López (1998).

**Importancia de la altura del corte.** Eraso (1985), manifiesta que contrariamente al trébol, la alfalfa echa sus renuevos algunos centímetros por encima del suelo, y dado que estos son continuadores de la producción forrajera y, al mismo tiempo, portadores de otros puntos de crecimiento, resulta imprescindible respetarlos en el momento del corte. Para las regiones húmedas esto es muy importante, porque en años normales, una interrupción del rebrote facilita la propagación de malezas. Los renuevos salen según ya hemos referido a partir de varios centímetros por encima del suelo; si el corte se inicia basándose, como indicador en esos rebrotes deberá ponerse especial cuidado en cortar únicamente la parte vieja, no la nueva. Es decir, habrá que cortar alto, dejando un rastrojo de 5 a 8 cm; el rebrote, de esta manera, resultará más vigoroso y seguro. Si el corte afectara a ambos (viejo y nuevo) el

daño que se produciría sería sensiblemente mayor. Pudiera suceder que, por cualquier otra causa, conviniera cortar cuando las yemas de los rebrotes se encuentran en estado durmiente; también en estos casos, con mayor motivo, deberá respetarse la referencia que hemos indicado respecto a la altura del rastrojo. Cualquier práctica que elimine o reduzca este rastrojo perjudica al alfalfar, porque al sufrir un mayor desgaste las reservas, se produce inexorablemente un debilitamiento y la planta desaparecerá prematuramente.

**Ritmo de explotación.** Del Pozo (1983), manifiesta que de todo lo tratado en cuanto a crecimiento de la alfalfa, producción de forraje y calidad del mismo, hace necesario establecer un cierto ritmo de explotación o calendario de cortes que permita obtener el máximo de unidades alimenticias de un alfalfar cada año y a lo largo de su vida. No debe olvidarse este último aspecto, que permite disminuir los gastos de cultivo, extendiendo la explotación a un largo número de años. La conservación de la "salud" de la parcela es de un interés primordial. Desgraciadamente, muchos agricultores hacen caso omiso de ello, pretendiendo avariciosamente obtener la máxima rentabilidad de su alfalfar en el primer año y no cayendo en la cuenta que acortan la vida de su cultivo, en perjuicio propio. Para mantener un alfalfar en buen estado es necesario tomar en cuenta los siguientes aspectos:

- Mantener un nivel de reservas en raíces y coronas, permitiendo por lo tanto un mayor índice de recuperación después del corte.
- Conseguir un máximo de producción de forraje.
- Conseguir un incremento en la calidad de forraje

Se debe tomar en consideración que la planta tiene dos períodos notables el primero relacionado con el crecimiento vegetativo de la planta y el segundo considerado el netamente reproductivo, una vez que la planta determina su máximo crecimiento detiene su producción en materia verde y pasa a su actividad reproductiva con la respectiva floración y el excedente nutritivo empieza acumular en la corona para dar lugar a la emergencia de nuevos rebrotes como respuesta de las reservas almacenadas, un corte tardío podría perjudicar a esta brotación secundaria. La cantidad máxima de forraje se consigue cuando la parcela esta aprovechando la luz al máximo. Es decir, los

rayos solares no caen al suelo, sino que son interceptados por una u otra superficie verde del vegetal. Esto es fácil de detectar, porque a partir de este momento puede fácilmente observarse el amarillamiento de las bases de las plantas y de las hojas que en ella se encuentran.

**Composición química del forraje.** Del Pozo (1983), manifiesta que el gran interés de la alfalfa reside no solo en su capacidad de adaptación, facilidad de cultivo y como enriquecedora del suelo, sino particularmente por las importantes características del forraje que produce. Destaca de sobremanera la elevada riqueza proteica de la alfalfa; por el contrario la fibra es relativamente abundante en la alfalfa, especialmente en los tallos cuya importancia en el total se va aumentando con el tiempo.

La alfalfa esta escasamente dotada por la fracción denominada como extracto no nitrogenado; en otras palabras es un forraje relativamente pobre en energía. Estas características del forraje de alfalfa no son constantes. Existe una variación estacional que tiene directamente que ver con las líneas generales en que cambia el ritmo de crecimiento de la alfalfa a lo largo del año. Pero, además en cada momento del año la calidad del forraje viene determinada por el manejo, particularmente por el tiempo transcurrido desde el último corte.

En la actualidad se sabe que la naturaleza biológica de la alfalfa es por lo general considerada como un banco de proteína Marten et al (1980), encontró además que la mayor cantidad de nitrógeno esta en las hojas. Con relación a las hojas la cantidad de proteína distribuida esta entre el 30 al 50% se encuentran en los cloroplastos, dentro de lo cual se incluye un número específico de enzimas como la catalasa, la polifenoloxidasas, la fosforilasa, la citocromoxidasas y otras.

Sheaffer et. al (1988) menciona que el estado de crecimiento de la alfalfa actúa como un indicador en la producción y calidad del alfalfar, altas concentraciones de nutrientes son usualmente cosechados en estados inmaduros de la planta hasta antes de llegar al 10% de floración, una característica típica de la alfalfa es de almacenar carbohidratos no estructurales en la raíz y parte en las hojas.



**CUADRO 1. COMPOSICION QUIMICA (% EN BASE SECA) DE LA ALFALFA  
EN DIFERENTES ESTADOS FENOLÓGICOS.**

Principio nutritivo	Antes de yemas	Aparición yemas	
	florales	florales	Floración
Proteína Bruta, %	25,30	21,50	18,20
Fibra bruta, %	22,10	26,50	29,40
Cenizas, %	12,10	9,50	9,80

Fuente: Del Pozo, 1983.

Kellems (1998), realizó un estudio comparativo acerca de la influencia de la edad, durante el primer ciclo de crecimiento sobre la distribución de la proteína en las diferentes partes de la planta de alfalfa el promedio total de proteína fue de 29,7% en las hojas y de 12,6% en los tallos. Las amidas y aminoácidos libres de gran importancia son la aspargina, gamma amino-butírico, la alanina y la serina aunque en menor cantidad la glutamina, siendo esta última mucho más importante en las gramíneas que en las leguminosas.

Hoy se conoce que el grupo de carbohidratos estructurales tiene gran influencia en el valor alimenticio de la alfalfa, por lo que Kellems (1998), identificó una disminución de la digestibilidad a medida que la planta madura con un incremento en la concentración de la fibra, además la naturaleza de los carbohidratos difiere entre gramíneas y leguminosas, la alfalfa contiene una considerable concentración de azúcares del grupo de los monosacáridos glucosa y fructosa como también la sacarosa; 0,3% de glucosa. 0,4% de fructosa, 2,7% de sacarosa y 0,6% de oligosacáridos, como azúcares estructurales obtuvo celulosa 21,2%, hemicelulosa 14,2% lignina 11,5% estos datos reflejan entre la edad vegetativa juvenil de la planta a floración media. Esta particularidad en azúcares ocasiona una desventaja de la alfalfa con el grupo de carbohidratos complejos de las gramíneas, contrariamente el aprovechamiento de este tipo de glúcidos es mayor con las gramíneas que con las leguminosas como la alfalfa. En términos de procesos digestivos la celulosa de las gramíneas es mayormente atacada por la microflora ruminal por lo tanto la eficiencia de digestión de la “fibra” es diferencial entre especies forrajeras.

López (1998), obtuvo la concentración de componentes nutritivos de la alfalfa en diferente estado de madurez, analizó que existe variación al comparar forraje de alfalfa tierno de mayor concentración proteica y bajo nivel de fibra bruta con hierba de alfalfa en un estado vegetativo mayor. Las respectivas concentraciones inversas obtenidas es decir una disminución en la calidad de proteína y el incremento gradual de la fibra bruta con tendencia a una lignificación especialmente de los tallos con la respectiva pérdida de masa foliar (caída de hojas) hace que la calidad del forraje disminuya cuadro 2.

**CUADRO 2. ANALISIS PROXIMAL DE LA ALFALFA DESDE EL DÍA 46  
HASTA EL DÍA 76.**

Principio nutritivo	días			
	46 - 52	55 - 61	64 - 70	73 - 76
Materia Seca, %	22,72	27,17	27,23	27,20
Materia Orgánica, %	89,42	89,68	90,23	90,88
Fibra Cruda, %	25,72	27,05	28,32	30,70
Proteína Bruta,%	23,86	22,44	21,79	19,44
Extracto Etéreo, %	2,23	2,07	1,67	1,25
ELN <sup>a</sup> , %	37,61	38,13	38,45	39,49

Fuente: López (1998)

<sup>a</sup> Extracto libre de nitrógeno

Ball et al (1997), manifiesta que un heno de alfalfa de alta calidad generalmente debe tener una proteína cruda superior al 19%, tener el peso de las hojas en relación de la planta más grande que el 40%, un color verde más profundo y sobre el 60%, mas del 20% de las hojas adheridas a los tallos, tener menos del 31% de Fibra Detergente Acido (F.D.A.), menos del 40% de Fibra Detergente Neutro (F.D.N.) y menos del 5% de material extraño (malezas).

### **Digestibilidad in vitro como criterio para la valoración nutritiva de los alimentos**

La digestibilidad es la fracción más variable en la calidad de un alimento. Entre los parámetros para la evaluación nutritiva de un alimento esta la digestibilidad, de esta depende en gran magnitud la eficiencia de un alimento además nos permite una caracterización de los alimentos sean estos voluminosos o finos (forrajes o concentrados), los forrajes tienen alrededor del 65% de digestibilidad, pero varía en función de la especie y edad del forraje.

La medición de la digestibilidad Maynard (1988) amplió conceptos para realizar estudios de digestibilidad in vivo ya sea en jaulas metabólicas o en pastoreo, el principio fundamental es proporcionar en confinamiento alimento a los animales en ensayo bajo condiciones de requerimiento en el segundo caso se alista con un determinado colector de heces denominado arnés, la producción de heces colectadas es proporcional a la cantidad de alimento consumido por unidad de superficie. Colateralmente a estos métodos de determinación existen condiciones para conjuntamente conducir ensayos de consumo voluntario y en función de este estimar la digestibilidad ad libitum o digestibilidad con suministro de alimento restringido.

Inicialmente las pruebas de digestibilidad fueron llevadas a cabo bajo condiciones in vivo con una duración de tiempo alrededor de 20 días consecutivos, esta técnica tuvo y tiene desventajas por el equipamiento requerido, el número de animales necesarios, espacio y tiempo. Como ejemplo, para llevar pruebas de digestibilidad con ovinos, es necesario al menos 6 animales, jaulas metabólicas, área y otros; esto hace que los costos de operación sean costosos, sin embargo el ovino es considerado un modelo animal para todo tipo de experimentación que vaya a ser conducido para

rumiantes. Hoy en día el uso de técnicas de laboratorio para simular los procesos digestivos y determinar la digestibilidad de los forrajes se emplea como una alternativa al método de determinación de digestibilidad que emplea animales.

McDonald (1995) manifiesta que se han desarrollado procedimientos para simular los procesos digestivos in vivo, los métodos de laboratorio para predecir o estimar la digestibilidad de las materias seca y orgánica in vitro están basados en la utilización de líquido ruminal para incubación en laboratorio (Telly y Terry), métodos químico enzimáticos (pepsina-celulasa) y con la utilización de técnicas netamente químicas (KOH), las cuales permiten la estimación de la digestibilidad de algunos componentes de una alimento.

Johnson (1969), determinó que los ensayos de digestibilidad son tan modestos de realizar que se han hecho numerosos intentos para reproducir en el laboratorio las reacciones que tiene el tracto gastrointestinal del animal para poder determinar la digestibilidad de los alimentos. La digestibilidad in vitro en su primera fase se basa en una fermentación en un sistema cerrado es decir que todos los productos de la fermentación no son removidos, esta fermentación es provocada por los microorganismos presentes en el licor ruminal. En esta primera etapa se adiciona una solución amortiguadora (saliva artificial de McDougal) con el propósito de equilibrar el pH a 6.9 siendo estas las condiciones para que la actividad microbiana se vea estimulada.

La segunda fase se realiza una digestión con pepsina en medio ácido (ácido clorhídrico, HCl), la finalidad es hidrolizar la proteína bacteriana por completo y dejar únicamente el remanente lo que constituye el material no digerido.

El coeficiente de digestibilidad in vitro se determina como la proporción de los alimentos que han sido disueltos durante la incubación. El análisis de digestión in vitro esta basado en la rutina de laboratorio de (Tilley y Terry, 1963), y adaptado con algunas modificaciones en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología, FCP, ESPOCH, 2000. Las correcciones bajo nuestras condiciones no son sobre la base de cambios estructurales de la técnica sino en función de la calidad del líquido ruminal así hemos optado por cambiar la

relación saliva artificial y líquido ruminal de 4:1 a 2:1 respectivamente obteniendo resultados muy satisfactorios.

Ruiz (1998) menciona que el avance biotecnológico a permitido diseñar procedimientos en el laboratorio “in vitro” para degradar la materia seca y materia orgánica utilizando enzimas como las amilopectidasas, amilasas, celulasas y otras.

Church (1993) manifiesta que el procedimiento original de in vitro así como las diversas modificaciones propuestas que se han utilizado para medir la cuantía de digestión de la materia seca, materia orgánica y básicamente de carbohidratos estructurales. También se han desarrollado métodos basados en enzimas procedentes de hongos (*Aspergillus albus*) para valorar la digestión de la fibra. Las celulasas procedentes de hongos suelen predecir la digestión relativa de la fibra así como también los métodos de fermentación ruminal in vitro.

Antoniewicz et al (1996) menciona que generalmente *la digestibilidad In Vtro* simulan, excepto algo, la digestión en el tracto digestivo, debido a que los alimentos son incubados con buffers-líquido ruminal/pepsina-ácido clorhídrico o pepsina ácida / solución celulásica planteado por (Telly y Terry, 1963 y Kosmala y Brzóska, 1982) que son responsables de los métodos de laboratorio in vitro “tradicional” y digestión in vitro por celulasa respectivamente.

Van Soest citado por Church (1996) menciona acerca de los sistemas para análisis de alimentos fibrosos para la valoración química de los alimentos refiere a la determinación de la digestión de la fibra detergente neutra FDN, fibra detergente ácida FDA, lignina detergente ácida LDA, cutina ácido detergente y nitrógeno insoluble ácido detergente que en ensayos in vivo pueden servir de standars para trasladar a estimaciones mediante métodos de laboratorio que tienen base en la técnica de rutina de in vitro pero que posterior se acondiciona las técnicas de pared celular en el sobrante.

### **Sistemas actuales de valoración energética de los alimentos**

En nuestro medio no existe un amplio conocimiento de la utilización de la energía de los alimentos, especialmente para rumiantes la interpretación de la energía tiene limitantes primero de conceptos entre gramíneas y leguminosas,

las primeras son comprendidas como fuentes de energía y las últimas como bancos de proteína, lo cual resulta incomprensible entender de esta manera. La alfalfa es un forraje con alta concentración de proteína pero esto no le hace que no sea una fuente intermedia para aportar energía y que por ende tiene. En el fondo por lo analizado es cuestión de entender bien la clasificación de los alimentos lo que nos permitirá diferenciar per se la calidad que estos presentan.

Demos por otro lado familiarizarnos con las normas del sistema internacional de medidas que propone la utilización del joule por la caloría expresando a la vez EB, ED, EM y EN en MKcal (mega calorías) o MJ (mega joules).

**Sistema de Nutrientes Digeribles Totales (NDT).** Después de adoptar el sistema de “Unidades de Heno” los científicos comprendieron que el estándar heno, era demasiado variable para realizar las comparaciones satisfactorias. Hennebero y Stohmann (1865), en la Estación Experimental de Weende, Alemania, encontraron que el requerimiento alimenticio diario de un bovino podría variar de 4 a 7 Kg dependiendo de la calidad del heno. Para remplazar el heno como un estándar, desarrollaron un procedimiento basado en la digestibilidad de la proteína, carbohidratos y grasas, este sistema de Nutrientes digeribles totales (TDN) proporcionó las bases para diferentes métodos de evaluación de los alimentos. Este esquema fue adoptado en los EE.UU., y con ligeras modificaciones es aún usado, a pesar de que el procedimiento de TDN no toma en cuenta la energía perdida en metano y orina.

$$\text{NDT} = \% \text{PBD} + \% \text{FBD} + \% \text{ELND} + 2.25 (\text{EED})$$

Donde:

PBD = Proteína bruta digerible

FBD = Fibra bruta digerible

ELND = Extracto libre de nitrógeno digerible

EED = Extracto etéreo digerible

Nutrientes digeribles totales (NDT), Kellems (1998) interpreta como un método utilizado por muchos años para estimar el contenido de energía de los

alimentos. Este método suma todas las fracciones que son digestibles como proteína, fibra, extracto etéreo, y el extracto libre de nitrógeno. El NDT es utilizado para estimar la ED de un alimento que va a ser consumido por un rumiante con la aplicación de la siguiente ecuación  $ED \text{ (Mcal/kg MS)} = 4,409 \times \%(\text{NDT})/100$ , 4,409 es la constante de EB (Mcal/kg MS) expresada en forma general para los alimentos.

**Sistema de Energía Neta (EN).** Este sistema fue desarrollado primeramente por Kellner y posteriormente refinado en el Instituto Oscar Kellner de Alemania. Diferentes factores son definidos para proteína cruda digestible, fibra cruda digestible y extracto libre de nitrógeno digestible. Para forrajes de baja calidad una serie de factores de corrección son agregados. Se le atribuye al método una precisión muy grande pero de acuerdo a otros autores la inclusión de factores tales como proteína cruda digestible es sorprendente por el escaso significado biológico que representa.

Van Soest (1978), en Holanda desarrolló una medida de energía neta por computación, la cual es transformada a una unidad denominada VEM. Un sistema similar fue desarrollado en Francia, el cual se basó en un kilogramo de cebada siendo una unidad equivalente a 1.73 Mcal EN/kgMS.

Un sistema de energía neta basada en los principios científicos de Flatt, Moe y Tyrrell (1988) fue desarrollado en Bettsville, USA y se aplica para balanceo de raciones para ganado lechero.

National Research Council (1988), propusieron la utilización de los NDT para estimar la energía neta y aplicar en ganado de leche tomando en consideración la calidad o metabolicidad del alimento.

Lofgreen y Garrett (1968), desarrollaron en USA otro procedimiento basado en experimentos comparativos de sacrificio tanto de ovejas como de vacunos y para uso en ganado de engorda. Esta ampliamente definido pero debido a que está basado en la composición de razas desarrolladas en Estados Unidos no es muy aplicable a razas marcadamente definidas en cuanto a las características de la canal.

**Sistemas de Energía Metabolizable (EM).**...Agriculture Research Council (1980), desarrolló el sistema de Energía Neta basada en “Equivalente Almidón”



el mismo que ha sido recientemente reemplazado por otro basado en energía metabolizable (EM) el cual es expresado en mega joules (MJ); método que a sido adoptado en virtud de las diferencias observadas entre la utilización de la energía para mantenimiento, ganancia, crecimiento y lactación, las mediciones en animales difieren en su función fisiológica resultando así diferentes estimaciones de los valores de la energía neta para varios alimentos, basando el sistema en los requerimientos del animal, ciertas correcciones pueden ser aplicadas de acuerdo al nivel y tipo de producción.

Los valores de energía metabolizable pueden ser calculados a partir de la metabolizabilidad de la energía bruta, estimada al nivel de alimentación para mantenimiento. Diferencias en eficiencia debido a la digestibilidad de la dieta, son computadas como diferencias entre su eficiencia para mantenimiento ( $k_m$ ) y su eficiencia para producción sobre el nivel de mantenimiento ( $k_f$ ) la ventaja del sistema de EM es que permanece constante para cada tipo de alimento pero en la práctica las complicaciones se presentan cuando se calculan los requerimientos para el animal en su nivel específico de producción. Las diferencias deben ser tomadas en cuenta cuando se formulan raciones para animales, lo que en contraste con el sistema de EN simplemente proporcionan factores de corrección para lactación y engorde, etc.

La EM es determinada tomando en consideración las pérdidas de energía en la orina y la combustión de gases a partir de la ED consumida, para la formulación de raciones en rumiantes se debe considerar el aporte de EM a partir de los alimentos y los requerimientos de EM por parte del animal, este análisis fue propuesto por la NRC (1988).

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Localización y duración del experimento**

La presente investigación se realizó en dos etapas, la investigación de campo en la Estación Experimental Tunshi y la segunda fase en el Laboratorio de Nutrición Animal y Bromatología de la Facultad de Ciencias Pecuarias de la Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, ubicada en el Km. 1 1/2 en la Panamericana Sur, a una altitud de 2740 m.s.n.m, 17°40' de longitud Oeste y 1°31' de latitud Sur, las condiciones meteorológicas se reportan en el cuadro 3.

La duración de la presente investigación fue de cuatro meses para el estudio de campo y 6 meses en la investigación de laboratorio

### **Unidades Experimentales**

En la investigación de campo, evaluación fenológica de la alfalfa variedad WL se utilizó un área dividida en 6 parcelas experimentales de 10 x 25 m, una parcela correspondió a cada intervalo de corte (35; 42; 49; 56; 63 y 70 días), identificándose así a cada corte como un tratamiento. En cada tratamiento se tomó al azar 10 plantas (repeticiones) para la respectiva evaluación.

La investigación de laboratorio que se identifica como la ejecución de los métodos in vitro para desarrollar los estudios de digestibilidad, se utilizó una vaca Holstein mestiza de 36 meses de edad fistulada a nivel de rumen como animal donador de licor ruminal, componente que fue utilizado en las pruebas de simulación de digestibilidad en el laboratorio. Con este esquema se evaluó la digestibilidad in vitro con cuatro replicas (repeticiones).

### **Equipos y materiales**

Los materiales útiles en la evaluación de campo fueron los siguientes:

- Seis parcelas experimentales de alfalfa (variedad WL) de 10 x 25 m
- Equipo básico para la evaluación técnica de pastizales (cuadrantes de 1m y 0,5 m<sup>2</sup>, dispositivos para medición, fundas plásticas, hoz y otro tipo de material complementario).

Para el desarrollo de los estudios de laboratorio fue necesario la utilización del siguiente equipamiento:

- Animal fistulado (vacuna Holstein de 36 meses de edad).

**CUADRO 3. CONDICIONES METEOROLÓGICAS DEL AREA DE ESTUDIO**

Características	Valores
Clima	Estepa espinosa montano bajo
Temperatura media anual (° C)	12,8
Precipitación (mm/año)	723,.6
Humedad relativa (%)	66

Fuente: Estación Meteorológica de la Facultad de Recursos Naturales ESPOCH (1999).

- Equipos para el Análisis Proximal basado en el procedimiento analítico de Weende 1865 (humedad inicial (HI), humedad higroscópica (HH), materia seca (MS), cenizas, proteína cruda (PB), fibra bruta (FB), extracto etéreo (EE), y extracto libre de nitrógeno (ELN).
- Equipo para la determinación de energía bruta (EB) por calorimetría directa
- Equipo para Digestibilidad de la materia seca y materia orgánica In Vitro (Método Telly y Terry)
- Equipo para la Digestibilidad de la materia seca y materia orgánica In Vitro (Método Celulasa)

### **Tratamiento y diseño experimental**

En la primera fase se evaluó el efecto de la edad de corte (35; 42; 49; 56; 63 y 70 días) de la alfalfa variedad WL sobre los principales indicadores de fenología bajo un Diseño Completamente al Azar (DCA) con diez repeticiones (10 plantas) por tratamiento, así cada intervalo de tiempo representó el respectivo tratamiento.

Para la investigación de laboratorio se planteo la utilización de dos métodos de laboratorio conocidos como la técnica tradicional de Telly y Terry y la técnica por Celulasa para determinar la digestibilidad in vitro de la alfalfa en diferentes estados fenológicos. La época de corte (35; 42; 49; 56; 63 y 70 días) representó de la misma manera el respectivo tratamiento, la evaluación de la digestibilidad in vitro fue realizada bajo el esquema de un Diseño Completamente al Azar (DCA) con cuatro repeticiones (4 replicas) por tratamiento.

**Esquema del experimento.** En el cuadro 4 y 5 se aprecia el esquema del experimento utilizado en las investigaciones de campo y laboratorio respectivamente.

El modelo lineal aditivo utilizado para las dos fases experimentales correspondientes a la evaluación de la fenología (investigación de campo) y el estudio comparativo de la digestibilidad in vitro mediante el empleo de dos técnicas (investigación de laboratorio) fue el siguiente:

**CUADRO 4. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA EVALUACIÓN FENOLOGICA**

Día	Código	Rep/Trat	T.U.E.	No.plan/Trat.
35	T-35	10	1	10
42	T-42	10	1	10
49	T-49	10	1	10
56	T-56	10	1	10
63	T-63	10	1	10
70	T-70	10	1	10
TOTAL PLANTAS				600

T.U.E.: Tamaño de la unidad experimental

**CUADRO 5. ESQUEMA DEL EXPERIMENTO PARA LA DIGESTIBILIDAD IN VITRO TELLY-TERRY Y PEPSINA CELULASA**

Día	Código	Replicas/Trat	T.U.E.	No.Replicas/Trat.
35	T-35	4	1	4
42	T-42	4	1	4
49	T-49	4	1	4
56	T-56	4	1	4
63	T-63	4	1	4
70	T-70	4	1	4
TOTAL REPLICAS				24

T.U.E.: Tamaño de la unidad experimental

$$Y_{ij} = \mu + r_i + v_{ij}$$

donde:

$Y_{ij}$  = Valor del parámetro en medición

$\mu$  = Promedio

$\alpha$  = Efecto del tratamiento

$v$  = Efecto del error experimental.

### **Mediciones experimentales**

En la primera fase que comprende la evaluación de la fenología las variables a ser estudiadas son las siguientes:

- Altura de la planta
- Número de tallos / planta
- Número de meristemas coronarios/planta
- Altura de meristemas coronarios/planta
- Número de tallos florales/planta
- Floración
- Peso de la planta
- Densidad
- Producción de materia verde
- Producción de materia seca
- Producción de hojas
- Producción de tallos
- Relación hoja / tallo

Para la segunda fase o investigación de laboratorio se estableció el estudio de las variables de composición y valor nutritivo.

- Composición química de la alfalfa, bajo el esquema Weende (1865)
- Determinación de humedad inicial (HI), humedad higroscópica (HH), materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB), fibra bruta (FB), extracto etéreo (EE) y extracto libre de nitrógeno (ELN).
- Determinación de energía bruta (EB) por calorimetría directa
- Cálculo de energía digestible (ED) en Mcal/kg MS
- Cálculo de la energía metabolizable (EM) en Mcal/kg MS.

**CUADRO 6. VALOR NUTRITIVO Y ENERGETICO DE LA ALFALFA<sup>1</sup>**

Detalle	Edad, días					
	35	42	49	56	63	70
Digestibilidad de la MS, %						
Promedio	65.66	63.42	62,24	61,63	60,61	61,46
ES <sup>3</sup>	0,880	0,880	0,880	0,880	0,880	0,880
Digestibilidad de la MO, %						
Promedio	68.47	66.40	64.53	63.39	63.59	63.81
ES	0,821	0,821	0,821	0,821	0,821	0,821
NDT <sup>2</sup> , %						
Promedio	67,50	64,05	62,11	63,68	63,78	61,60
ES	1,050	1,050	1,050	1,050	1,050	1,050

<sup>1</sup> Corresponde a los datos generados en la investigación de Guevara (2000)

<sup>2</sup> Nutrientes digeribles totales

<sup>3</sup> ES, error estándar de la media

- Cálculo de la energía metabolizable (EM) en MJ/kg MS
- Determinación de la metabolibilidad de cada tratamiento (q)
- Determinación de la digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS) por el método Telly Terry.
- Determinación de la digestibilidad de la materia orgánica (DIVMO) por el método Telly y Terry.
- Determinación de la digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMSC) por el método Celulasa.
- Determinación de la digestibilidad de la materia orgánica (DIVMOC) por el método celulasa.
- Para el análisis de regresión y fundamentalmente del ajuste de los valores de digestibilidad in vitro por medio de las dos técnicas de la MS y MO se utilizó los datos experimentales obtenidos por Guevara (2000) como DMS, DMO, NDT (cuadro 6). El uso de estos valores son particularmente necesarios para poder interpretar el ajuste de los datos experimentales de laboratorio con los valores de digestibilidad estándar que se obtuvo en los estudios realizados por el mencionado autor.
- Por otro lado independientemente para interpretar los valores de energía de la alfalfa en diferentes edades fue necesario partir de los resultados de NDT del autor mencionado anteriormente.

### **Análisis estadístico**

En el estudio de campo como en el de laboratorio los datos generados fueron interpretados mediante la aplicación de las siguientes pruebas estadísticas:

- Análisis de varianza (ADEVA)
- Estadística descriptiva
- La interpretación de las medias fueron sujetas a la prueba de separación propuesta por Duncan (1955).
- Los niveles de probabilidad a los que se analizaron los datos fueron  $p < 0,05$  y  $p < 0.01$ .
- Análisis de correlación
- Análisis de regresión



**CUADRO 7. ESQUEMA DEL ADEVA PARA FENOLOGIA**

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	59
Tratamientos	5
Error experimental	54

**CUADRO 8. ESQUEMA DEL ADEVA PARA DIGESTIBILIDAD IN VITRO**

Fuente de variación	Grados de libertad
Total	23
Tratamientos	5
Error experimental	18

## **Procedimiento Experimental**

**Descripción del experimento.** Por la magnitud de la investigación se procedió en dos fases, la primera que corresponde a la investigación de campo para evaluar la fenología de la alfalfa en diferentes estado fenológicos. Y la segunda parte constituye la investigación de laboratorio para el estudio de la composición química, determinación de energía, y digestibilidad in vitro

El seguimiento experimental en la primera fase fue como sigue:

- Las parcelas experimentales estuvieron ubicadas en la Estación Experimental Tunshi, hay que considerar que la pradera de alfalfa al momento de realizar este estudio tuvo 2 años de haber sido implantada, antes del ensayo se realizó un corte de igualación; y la respectiva delimitación para cada tratamiento considerando la edad de la planta (35, 42, 49, 56, 63 y 70 días), el intervalo de tiempo entre tratamientos fue de 7 días.
- Al azar se identificó 10 plantas de cada tratamiento, estas a la vez constituían las repeticiones, en esta muestra representativa de la parcela experimental se procedió a efectuar las respectivas mediciones de las variables botánicas en función del estado fenológico.
- Independientemente se realizó la evaluación de la variable densidad poblacional de la alfalfa en cada tratamiento, para lo cual se realizó seis lanzamientos de cuadrante en toda la parcela experimental correspondiente a cada tratamiento.
- Las muestras de cada repetición (planta) fueron llevadas individualmente al laboratorio para registrar peso de la planta, hojas y tallos y además calcular la relación hoja tallo.
- Finalmente se determinó la humedad inicial de cada tratamiento, estas muestras posteriormente sirvieron para realizar los respectivos análisis químicos en el LNA.

Para la comparación de la digestibilidad in vitro de la MS y MO entre los dos métodos de laboratorio, el procedimiento experimental estuvo basado en los siguientes pasos:

- El muestreo para el análisis se tomó de cada uno de los tratamientos que fueron utilizados en los estudios de digestibilidad in vivo, la finalidad fue de mantener homogeneidad de material en los ensayos de in vivo, in vitro e in situ, estas muestras constituyeron los respectivos estándares.
- Se realizó el análisis químico utilizando el esquema Weende y calorimetría (HI, HH, MS, Cenizas, PB, FB, EE, ELN y EB).

#### Determinación de humedad inicial (HI)

Principio. Conocida también como humedad tal como ofrecida (TCO) y consiste en secar el forraje en la estufa a una temperatura de 60 - 65 °C, hasta tener un peso constante, este secado tiene una duración de 24 horas. La muestra posteriormente se lleva a la molienda si el caso requiere del análisis proximal.

#### Determinación de humedad higroscópica (HH)

Principio. Las muestras que son desecadas a 65 °C, aún contienen cierta cantidad de agua llamada humedad higroscópica (HH); la humedad higroscópica químicamente está enlazada con sustancias del forraje y depende de la composición e hieroscopia del mismo. Se determina la humedad higroscópica de las muestras en la estufa a 105 °C por un tiempo de 12 horas.

#### Determinación de Cenizas

Principio. Se lleva a cabo por medio de la incineración seca y consiste en quemar la sustancia orgánica de la muestra problema en la mufla a una temperatura de 500 - 600°C, con esto la sustancia orgánica se combustiona y se forma el CO<sub>2</sub>, agua, amoníaco y el remanente está conformada por la sustancia inorgánica (sales minerales) este sustrato queda en forma de residuo producto de la incineración, este proceso se lleva a cabo hasta obtener una ceniza de color gris o gris claro.

#### Determinación de Fibra Bruta (FB)

Principio. Se basa en la sucesiva separación de la ceniza, proteína, grasa y sustancia libre de nitrógeno; la separación de estas sustancias se logra mediante el tratamiento con una solución débil de ácido sulfúrico y álcalis, agua caliente y acetona. El procedimiento tiene dos fases, la digestión

ácida: el ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) hidroliza a los carbohidratos insolubles (almidón, parte de la hemicelulosa); digestión alcalina: los álcalis transforman en estado soluble a las sustancias albuminosas, separan la grasa, disuelven parte de la hemicelulosa y lignina; el éter o acetona extraen las resinas, colorantes, residuos de grasa y eliminan el agua; después de todo este tratamiento el residuo que queda es la fibra bruta. El esquema de Weende determina la fibra en su totalidad y no toma en consideración las componentes de la pared celular por separado, en sí el contenido de fibra constituye un dato de referencia porque el desarrollo de nuevos procedimientos analíticos permiten analizar fibra detergente neutra, fibra detergente ácida, y lignina detergente ácida. Con estos resultados es posible determinar el contenido o concentración de celulosa, hemicelulosa y lignina de los forrajes y alimentos voluminosos o con un alto contenido de pared celular.

#### Determinación de Proteína bruta (PB)

Principio. Sometiendo a un calentamiento y digestión una muestra de forraje con ácido sulfúrico concentrado, los hidratos de carbono y las grasas se destruyen hasta formar  $\text{CO}_2$  y agua, la proteína se descompone con la formación de amoníaco, el cual interviene en la reacción con el ácido sulfúrico y forma el sulfato de amonio. Este sulfato en medio ácido es resistente y su destrucción y desprendimiento de amoníaco sucede solamente en presencia de una base fuerte; luego de la formación de la sal de amonio actúa una solución altamente alcalina como el hidróxido de sodio al 50 % como producto de la reacción se desprende el nitrógeno en forma de amoníaco, este amoníaco es retenido en una solución de ácido bórico al 2.5% antes de la titulación con ácido clorhídrico a una concentración de 0.1 N. se forma el borato de amonio y como resultado de la titulación queda formado el cloruro de amonio.

#### Determinación de Extracto Etéreo (EE)

Principio.- La fracción soluble en solventes orgánicos (éter de petróleo, acetona, éter di etílico) como grasa, carotenos, lípidos, pigmentos y otros

componentes afines son extraídos por la acción de estos solventes en un tiempo medio de 4 horas en constante reflujo.

Determinación del extracto libre de nitrógeno (ELN)

Principio.- Se refiere a la fracción libre de nitrógeno, en este grupo están incorporados almidones y azúcares totales solubles, estos últimos a la vez pueden ser azúcares reductores o no reductores. No es determinado por proceso analítico, su interpretación esta dada por diferencia matemática mediante la aplicación de la siguiente fórmula.

$$\text{ELN (\%)} = 100 - \%(\text{Cenizas} + \text{PB} + \text{FB} + \text{EE})$$

Los métodos de laboratorio para predecir la digestibilidad de la MS y MO son independientes pero que cada uno mantiene su alcance analítico para estimar la digestión in vitro. El método tradicional en la primera fase requiere de microorganismos provenientes del líquido ruminal para la incubación inicial en tanto que el método de Celulasa es una técnica basada en dos procesos de incubación en la que se utiliza únicamente soluciones químico-enzimáticas. Cada método tiene su eficacia con ligeros incrementos de sus resultados en comparación a los reportes de valores in vivo.

Digestibilidad in vitro, (Telly y Terry, 1963)

Principio.- El método consiste de dos etapas o estadios por lo que se le ha dado en llamar digestibilidad in vitro de la materia seca de dos fases de Telly y Terry, investigadores ingleses que idearon este procedimiento sistemático de digestibilidad en el laboratorio. Durante la primera fase una muestra finamente molida (criba de 1 mm  $\phi$ ) de alimento es incubada por 48 horas con líquido ruminal en un tubo bajo condiciones anaeróbicas y a temperatura controlada. En la segunda fase las bacterias son destruidas por acidificación con ácido clorhídrico y pepsina e incubadas otras 48 horas. El residuo presente en el tubo es filtrado en crisoles con poro, secado e incinerado y mediante la aplicación de una serie de

cálculos se obtiene la estimación de la digestibilidad de la materia orgánica.

#### Digestibilidad in vitro, Método de la Celulasa

Principio.- Para facilitar la ruptura celulolítica, la muestra del alimento es tratada con una solución de pepsina, como los alimentos contienen almidones, estos son removidos por hidrólisis a elevada temperatura (80° C), finalmente se expone las paredes celulares al ataque por medio de la celulasa. La técnica es una adaptación de la original realizada por Murillo y Ruiz (1998), la digestibilidad de la materia seca consta de dos fases enzimáticas. La primera consiste en someter a la muestra a una actividad mixta con una solución HCl – pepsina durante 24 horas a una temperatura de 40° C y luego se filtra . Posterior a esta fase se realiza la digestión celulásica incubando 24 horas y a la misma temperatura que la fase anterior, al término de este tiempo se filtra y el residuo en el vaso es sacado e incinerado. La materia orgánica digestible se calcula mediante la aplicación de fórmulas matemáticas.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Evaluación fenológica de la alfalfa

La variedad de alfalfa WL es una especie perenne intermedia con ciertas cualidades que están relacionadas con la genética, el comportamiento fenológico es diferencial en función a determinados factores edáficos y medio ambientales, en nuestro medio es considerada una especie para corte pero muchos ganaderos destinan su alfalfar a pastoreo o combinan el manejo, se adapta muy bien en la zona central es persistente, soporta muy bien la seca prolongada, resiste la humedad de capa fina, macolla bien y tiene una buena cobertura basal y aérea. Como principales variables que tienen relación con la productibilidad y calidad se tiene la altura de la planta, número y altura de meristemas coronarios, floración, producción de materia seca y la relación hojas/tallo.

La altura de la planta tiene un incremento y tendencia lineal desde el día 35 hasta el 70 con 79,64 y 94,20 cm respectivamente, este constituye el rango amplio de crecimiento, comparados con los valores intermedios (cuadro 9), da una diferencia significativa  $p < 0,05$ ; estos datos al comparar con los resultados obtenidos por López (1998) al analizar esta variable obtuvo que la planta sigue crece gradualmente durante todo el período de medición así en el 46 al 76 día de edad de la planta la altura fue de 67,80 a de 105,20 cm, los resultados en este estudio al día 70 puede ser considerado como un dato intermedio pero si existe diferencia con la altura del día 35; esta diferencia es debido a la época de estudio. Los resultados de altura de la planta entre 35 a 42 días Bernadette et al (1998) esta entre 46 a 58 cm. lo cual es comprensible por la época de estudio realizado en Francia en primavera, por lo tanto no son datos comparativos con los obtenidos en la presente investigación.

Existe una diferenciación entre meristemas coronarios y axilares, nos referiremos a los últimos, los resultados en función del día de corte o cosecha no tienen diferencias estadísticas, el rango va de 36 a 43 meristemas salidos de la corona entre los 35 a 63 días respectivamente, sin embargo en el día 70 se deprime a 33,40 meristemas/planta, debido a la limitada incidencia de

luminosidad por la presencia de la planta vieja esto hace que se pierda rebrotes de la nueva planta. Al comparar y analizar los datos reportados por Crist (1997), con referencia a la altura en los días netos de aprovechamiento del alfalfar, sugiere realizar la cosecha alrededor del día 35, tiempo en que los meristemas han alcanzado una altura de 2.0 cm. en promedio, concluye además que se obtendría forraje de buena calidad con más frecuencia de cosecha/ha/año. Con los datos generados en la presente investigación y al ser comparados con los del mencionado autor se puede dar cuenta que en realidad a esta altura y con el manejo de corte que se realiza a menudo en nuestro medio (5 cm. sobre la base) no se afectaría la producción de la nueva planta, lo contrario ocurre con el corte sobre el día 49; en el cual la altura del nuevo vástago está en 6,71 cm. En éste estudio el crecimiento del rebrote es gradual, se tiene una amplio rango de 2,38. a 16,85 cm. entre los 35 a 70 días con diferencias significativas de alta consideración  $P < 0.01$ . La altura comparada entre el valor del presente estudio y con el del mencionado autor para el día 35 no tiene diferencia. Estudios con la alfalfa variedad abunda verde López (1998) encontró que los meristemas aparecen como botones entre el 46 al 56 día y entre 55 al 61 día alcanzan una altura de 2,32 cm. en tanto para el 64 al 70 día 4,79 cm y 8,60 cm. entre 73 al 76 día, si se comprara con los resultados experimentales resultan ser diferentes y básicamente se debe a la variedad y a la diferente época de evaluación en los dos ensayos (cuadro 9).

La floración de la WL como variedad mejorada entre una de las principales propiedades es persistir en estado vegetativo por lo tanto su condición reproductiva es muy baja y en muchos casos definitivamente no tiene un respuesta reproductiva para generar semilla viable, esta cualidad se ve reflejada en la escasa presencia de tallos florales/planta, el índice de floración fluctúa en 0% hasta el día 49 (cuadro 9), 3,56% de floración total en el día 56, incrementándose paulatinamente a 11,58% al día 63 y terminando con el 33,89% al día 70, estos valores comparados en primera instancia con la recomendación de cosecha cuando el alfalfar tiene alrededor del 10% de floración Ball et al (1999) resulta discutible en este caso porque si se interpreta esta variable bajo nuestras condiciones tomando en consideración con la



calidad del forraje se tendría una baja calidad nutritiva, este investigador puede tener razón en la respuesta forrajera de la alfalfa en los Estados Unidos bajo otras condiciones climáticas, y aún cuando sus picos productivos en forrajes son en primavera y verano. Del mismo modo al comparar los resultados con datos nacionales el porcentaje de floración equivalente a 3,33% alrededor del día 61 y con una máxima floración al término del estudio de 45,25% al día 76 reafirma en términos generales que la floración no es un indicador de cosecha de la alfalfa, López (1998).

La producción de materia seca (MS), es el indicador más adecuado para predecir la disponibilidad de MS para el ganado, pero depende de algunos factores entre los de mayor importancia cuenta la edad de corte y condiciones climáticas, en la zona de estudio se realizó la evaluación bajo la época de invierno, con marcadas precipitaciones esto ayudó a la planta a expresar su potencial productivo, en función de la edad de la planta y de su estado fenológico la producción de MS para el día 35 fue de 278,12 g/m<sup>2</sup> resultando el valor más bajo incrementándose a 430,50 y 515,04 g/m<sup>2</sup> para los días 42 y 49 respectivamente, para el día 56 en este estudio se g/m<sup>2</sup>, para los días 63 y 70, nótese que se da un incremento al último día de tratamiento por la presencia de material verde de la nueva planta, con respecto a esta variable Julier y Huyghe (1997) encontraron una producción media de 536,00 g/m<sup>2</sup>, con la variedad Luzelle que en características botánicas y productivas en la primavera de Francia (35 a 42 días de intervalo de cosecha) son similares a la WL, comparando estos valores se observa que los resultados son muy parecidos a la producción de MS del día 49. tiene la producción máxima de MS 737,86 g/m<sup>2</sup>, decreciendo a 649,86 y 667,10.

En nuestro medio el esquema de cosecha a temprana edad esta siendo muy discutido por los ganaderos, si bien a un estado fenológico corto por ejemplo 35 días la producción total sería de aproximadamente 27,8 Tn MS/ha/año y la producción máxima 51,66 Tn MS/ha/año para el día 56; este valor duplica al primero pero la calidad de forraje es menor, entonces es necesario centrar el conocimiento en la teoría disponibilidad y calidad de forraje frente al propósito productivo y requerimiento de MS por parte del animal.

**CUADRO 9. EVUALUACION BOTANICA DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES**

VARIABLES	Edad, días						ES <sup>1</sup>	p
	35	42	49	56	63	70		
Altura de la planta, cm	79,64c	85,54b	92,22ab	93,00a	94,20a	95,11a	2,93	0,002
Numero de tallos/planta	49,20a	45,40a	32,10b	34,80b	50,60a	40,60ab	3,29	0,001
Numero de meristemas coronarios/planta	36,10	42,80	36,70	36,50	36,90	33,40	2,97	0,379
Altura de meristemas coronarios/planta, cm	2,38d	3,91d	6,71c	8,56b	10,31b	16,85a	0,58	0,001
Numero de tallos florales/planta	0,00c	0,00c	0,00c	1,30c	5,20b	13,40a	0,64	0,001
Floración, %	0,00c	0,00c	0,00c	3,39c	11,58b	33,89a	1,58	0,001
Peso de la planta, g	115,04b	130,96b	168,41ab	219,50a	191,31a	194,77a	20,70	0,005
Densidad, número de planta/m2	12,17	14,00	12,83	13,50	13,00	12,50	0,92	0,901
Producción de materia verde, g/m2	1399,70b	1833,50b	2161,30ab	2963,30a	2487,00a	2434,70a	271,00	0,003
Producción de materia seca, g/m2	278,12d	430,50c	515,04bc	737,86a	649,86ab	667,10a	67,80	0,001
Producción de hojas, MS g/m2	125,74c	193,90b	215,13ab	287,03a	238,31a	217,48a	26,30	0,003
Producción de tallos, MS g/m2	152,38d	236,60c	299,91bc	450,83a	411,56ab	449,63a	41,80	0,001
Relación hoja/tallo	0,83	0,82	0,72	0,64	0,58	0,48		

Promedios con letras iguales en la misma fila no difieren significativamente, Duncan (1955)

<sup>1</sup> ES, error estándar de la media

La relación hoja/tallo, esta proporción independientemente de otros aspectos agro-botánicos expresa el índice foliar interpretado como la cantidad de hojas adheridas al tallo principal, esta relación es proporcional a la edad de la planta y consecuentemente al estadio fenológico de esta leguminosa, además incide en la calidad de la alfalfa. En función al coeficiente hoja/tallo se tuvo 0,83 para el día 35 siendo el punto de partida de disminución en función de la edad de la planta obteniéndose 0,82 para el día 42 con una caída brusca en la proporción hasta 0,48 en el día 70. Debemos mencionar que en la evaluación de esta variable se tomo en consideración la planta vieja desechando todo el rebrote para prescindir el efecto de la nueva planta especialmente en los días 63 y 70 en los cuales el tamaño de los nuevos vástagos podrían afectar de sobre manera en la cantidad de hoja por unidad de tallo.

Los resultados reportados por Julier y Huyghe (1997) al estudiar esta variable para la variedad Luzelle (Francia), encontró una relación equivalente a 0,73 y Sheaffer et al (1988) con las variedades WL 318 y Moapa (USA) entre los 35 a 40 días 0,77 y 0,70 respectivamente en una edad de corte correspondiente alrededor de 37 a 42 días, al comparar con los resultados experimentales de este estudio se puede observar que en nuestra zona los resultados coinciden cercanamente con la proporción obtenida al día 49.

La edad de corte, altura de meristemas si bien no presentan un alto grado de correlación con variables de composición y valor nutritivo en la práctica diaria de los ganaderos resultará imprescindible, por lo tanto en el cuadro 9 se reporta el grado de dependencia que tienen estas variables entre si, el ajuste de la regresión para crear ecuaciones matemáticas de predicción están basadas en la interacción técnica y práctica del manejo de las posibilidades que demuestran las respuestas de fenología, composición química y valor nutritivo.

### **Composición química de la alfalfa**

La calidad nutritiva de la alfalfa depende principalmente del suelo, estado fenológico, y respuesta del potencial genético de la variedad, la concentración de las principales biomoléculas como proteína, carbohidratos solubles o

estructurales, grasa saturada y no saturada y por otro lado componentes secundarios pero de gran importancia tales como minerales y vitaminas, como también componentes diversos, en este grupo consta taninos, saponinas, fenoles entre otros hacen de la alfalfa el forraje más estudiado desde el punto de vista químico.

La materia seca (MS), materia orgánica (MO), proteína bruta (PB) y fibra bruta (FB), son variables dependientes del estado fenológico de la alfalfa, pues en función de este parámetro se tendrá un incremento o disminución de la calidad y valor nutritivo del forraje.

La edad de la planta determina una mayor o menor concentración de MS en el día 35 la proporción MS, 19,87% resulta el más bajo valor incrementándose en forma gradual hasta 27,40% al día 70 conforme avanza el estado de madurez de la planta (cuadro 10), la MS es un indicador clave para el cálculo de la disponibilidad de kg.MS/ha/año, a su vez permite al ganadero proyectar su producción animal con un previo balance forrajero que lógicamente esta dado por la cantidad de MS que disponga la granja. Estos valores extrapolados a cantidad de MS/ha/año se tendría aproximadamente para el día 35 una producción de 27,80 tn MS/ha/año en tanto para el día 56 que es la época de mayor producción 47,97 tn MS/ha/año lo que se trata de visualizar es que se duplica la producción pero al comparar calidad la alfalfa del día 35 sería de óptima calidad comparada con la del día 56 entonces la pregunta es qué época de cosecha se debe elegir?. La respuesta esta en que tipo de explotación estamos realizando, más adelante analizaremos las otras variables de calidad que están relacionadas con la edad de la planta.

La MO es el macro que envuelve a todos los constituyentes orgánicos, este constituyente entre el estado fenológico comprendido del día 35 al 56 tiene una concentración que esta alrededor del 89% de MO, con ligeras diferencias en los días 63 y 70 en los cuales existe un ligero incremento 91,85 y 90,41% debido al rebrote sin embargo se puede interpretar como cantidad estable para todos los intervalos de cosecha. Comparando los resultados obtenidos en el presente estudio con los estudiados por López (1998), el mismo que encontró leves incrementos en el análisis de MO sobre la variedad abunda

verde reportando 89,68 para el intervalo de 46 a 56 días y 90,88% para el día comprendido entre 73 a 76 respectivamente, las variaciones intermedias son de poca consideración, pero se puede adicionar un criterio técnico que a medida que la planta envejece la concentración mineral tiende a disminuir.

El análisis de nitrógeno total de la planta completa, para los intervalos de tiempo considerados como condición fenológica se enmarcaron para conocer la variación en la concentración de este componente nutritivo en función de la edad. La PB tiende a disminuir gradualmente y este efecto lo relacionamos a la pérdida de hoja así para el día 35 la cantidad de PB esta en un porcentaje de  $21,67 \pm 0,051$  llegando a  $18,26 \pm 0,152$  en el día 49 y alcanzando un incremento en el día 70 con  $19,96 \pm 0,107$ , el incremento se debe a la presencia de la nueva planta y principalmente esta variación esta relacionada en primer lugar a la madurez de la planta y a la caída progresiva de las hojas siendo estas las principales reservas de la PB, si comparamos estos datos con los reportados por Fiallos citado por López (1998) al analizar la variedad granada en el día 56 obtuvo 21,37% de PB siendo un valor ligeramente algo superior al analizado en este estudio sobre el mismo día 19,81% PB esta diferencia esta dada por la variedad. López en su estudio reporto 22,44% PB entre los días 55 a 61 resultado obtenido al analizar la variedad abunda verde lo cual hace reafirmar que se debe a la variedad, a la relación hoja/tallo y caída de la hoja que también es diferente para cada variedad.

En los cambios de calidad de la alfalfa el parámetro que más influye es el contenido de fibra bruta. Particularmente comprende el grupo de carbohidratos estructurales expresados en términos de FB, a la fibra bruta se le considera el nutriente que afecta directamente desde el consumo de materia seca hasta la digestibilidad de los principales constituyentes como materia orgánica y proteína bruta.

La concentración de FB en este ensayo fue de 29,02% FB con un incremento gradual diferenciado hasta el día 63 con 33,19% disminuyendo la concentración a 32,48% en el día 70, se aprecia este cambio por la presencia de parte vegetal proveniente de la nueva planta lo cual hace que la FB disminuya.

**CUADRO 10. COMPOSICION QUIMICA DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES<sup>1</sup>**

Detalle	Edad, días					
	35	42	49	56	63	70
Materia Seca (MS), %						
Promedio	19,87	23,48	23,83	24,90	26,13	27,40
ES <sup>2</sup>	1,062	1,062	1,062	1,062	1,062	1,062
Cenizas, %						
Promedio	10,99	10,45	10,26	10,05	8,15	9,59
ES	0,186	0,079	0,168	0,112	0,561	0,073
Materia orgánica (MO), %						
Promedio	89,01	89,55	89,74	89,95	91,85	90,41
ES	0,186	0,079	0,168	0,112	0,561	0,073
Proteína bruta (PB), %						
Promedio	21,67	19,51	18,26	19,81	19,09	19,96
ES	0,051	0,000	0,152	0,050	0,519	0,107
Fibra bruta (FB), %						
Promedio	29,02	30,95	32,06	32,52	33,19	32,48
ES	0,127	0,197	0,043	0,430	0,616	0,630
Extracto etéreo (EE), %						
Promedio	2,81	2,31	2,19	2,95	2,49	2,13
ES	0,023	0,004	0,006	0,393	0,098	0,008
Extr. Libre de nitrógeno (ELN), %						
Promedio	35,51	36,78	37,23	34,67	37,08	35,84
ES	0,413	0,413	0,413	0,413	0,413	0,413

<sup>1</sup> El análisis químico fue independiente para cada estado de corte y realizado bajo el esquema Weende (1865) adaptado en el LNAB.

<sup>2</sup> ES, error estándar de la media

Por otro lado en el cuadro 10 se reporta el porcentaje de carbohidratos solubles (ELN) el mismo que mantiene una aporte porcentual alrededor del 36% con una ligera variación estabilizando en los extremos es decir en los días 35 y 70 respectivamente con valores que se encuentran entre 35,51 y 35,84%. Si se compara estos valores con los estudiados por López (1998), tuvo un incremento aritmético de 25,72% para los días comprendidos entre 46 a 52, hasta 30,70% FB en el intervalo de 73 a 76 días, la cantidad de fibra esta dada por la edad de la planta y en este caso por la variedad, entre la abunda verde y la WL la súbita pérdida de hojas es mayor para la WL este efecto enmascara una mayor concentración de FB proveniente de la fracción correspondiente a los tallos, en estructura estos carbohidratos son diferentes a los contenidos en las hojas.

### **Contenido de Energía de la alfalfa**

El consumo de energía bruta (EB), o la energía total contenida en el alimento no aporta la suficiente información para determinar el valor nutritivo o metabolicidad de la dieta o componente de la dieta. La energía total expresa el calor producido por la combustión de los componentes de la materia orgánica en el organismo animal, de la cual la eficiencia de esta es interpretada como energía digestible (ED), y la energía requerida para los procesos metabólicos o calor requerido por unidad metabólica corporal se interpreta como energía metabólica (EM) y a partir de esta tomando en consideración la eficiencia  $k_m$ , (eficiencia para mantenimiento),  $k_l$  (eficiencia para lactancia),  $k_g$  (eficiencia para ganancia) resulta la energía neta destinada para mantenimiento, ganancia y lactancia.

Las variables referentes para interpretar la calidad energética de la alfalfa en diferente estadio fenológico en este estudio analizaremos la EM y Metabolicidad de la materia prima o forraje, siendo esta última variable esencial para conocer la calidad de la dieta suministrada a un animal.

Para interpretar el aporte de EM se realizó el análisis de calorimetría directa de cada tratamiento para obtener EB la cual fue de 19,12 MJ EB/kgMS para el día 35 disminuyendo gradualmente hasta llegar a 18,03 MJ EB/kgMS en el día 56 (cuadro 11), luego de los cual se da un ligero incremento a 18,41 y

18,66 para los días 63 y 70 respectivamente, al comparar estos datos con el valor constante de EB equivalente a 18,45 MJ EB/kgMS que se da en forma general a los alimentos, los resultados generados en el presente estudio están alrededor de este valor.

La ED calculada en este estudio fue interpretada a partir de los NDT obtenidos por en los estudios in vivo en ovinos por Guevara (2000).

En tanto la EM calculada a partir de la ED calculada. Los resultados interpretados de esta manera sirvieron además para predecir el aporte de  $EN_L$  expresada en MJ/kg MS de la alfalfa en diferente edad basada en la fórmula propuesta por la NRC (1988),  $EN_L = 0,0245 \times (\%NDT) - 0,12$ . La utilización de esta fórmula nos permitirá estimar la cantidad de energía neta aportada por la alfalfa en diferente estado de maduración (cuadro 11).

La calidad del alimento para cada tratamiento fue expresada como la metabolibilidad y su calculo teórico estuvo basado en la fórmula propuesta por la ARC (Association Research Council) 1980. El valor de q (metabolibilidad) expresa la cantidad de energía que entra realmente al proceso metabólico y por lo tanto es la energía útil que servirá para producir determinado producto final sea este carne o leche.

La EM fue correlacionada con determinadas variables de valor nutritivo como DIVMS ( $r = 0.710$ ), DIVMO ( $r = 0.689$ ), DIVMSC ( $r = 0.643$ ), DIVMOC ( $r = 0.684$ ) y FB ( $r = -0.820$ ) el grado de asociación obtenido entre estos componentes es de consideración aunque no reflejan una mayor dependencia sin embargo la regresión fue establecida para predecir esta variable (cuadro 14).

Los valores de energía obtenidos en este estudio estuvo enmarcado en estimaciones que se puede dar con la respuesta de estudios de digestibilidad in vivo en los cuales el investigador puede llegar a tener NDT y a partir de este se logra mediante la aplicación de ecuaciones a predecir el valor de energía que tuvo la alfalfa en diferente edad de corte. De la misma manera una vez que se ha logrado correlacionar variables en el cuadro 14 se expresa mediante ecuaciones de regresión la dependencia que tienen estas variables con otras que fueron estudiadas en este trabajo investigativo.



**CUADRO 11. CONTENIDO DE ENERGIA DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES.**

Detalle	Edad, días					
	35	42	49	56	63	70
Energía bruta, (EB) <sup>1</sup> MJ/Kg MS						
Promedio	19,12	18,37	18,24	18,03	18,41	18,66
ES <sup>7</sup>	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
Energía digestible, (ED) <sup>2</sup> MJ/kgMS						
Promedio	12,47	11,80	11,46	11,76	11,76	11,38
ES	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037	0,037
Digestibilidad de la energía, (dE) <sup>3</sup> %						
Promedio	0,651	0,643	0,628	0,651	0,639	0,609
ES	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007	0,007
Energía metabolizable, (EM) <sup>4</sup> MJ/kgMS						
Promedio	10,21	9,69	9,40	9,63	9,65	9,32
ES	0,128	0,128	0,128	0,128	0,128	0,128
Energía neta, (EN <sub>L</sub> ) <sup>5</sup> MJ/kgMS						
Promedio	6,417	6,064	5,865	6,026	6,036	5,812
ES	0,087	0,087	0,087	0,087	0,087	0,087
Metabolicidad (q) <sup>6</sup>						
Promedio	0,53	0,53	0,52	0,53	0,52	0,50
ES	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005	0,005

<sup>1</sup> La Energía bruta (EB) determinada por calorimetría directa en MJ

<sup>2</sup> Corresponde la cantidad de energía digestible calculada a partir de los NDT, ED(Mcal/kg MS) = 4,409 x (%NDT)/100

<sup>3</sup> Es la interpretación de la digestibilidad de la energía calculada dE = ED/EB

<sup>4</sup> Corresponde a la interpretación de la eficiencia de la ED y se determina como EM(MJ/kg MS) = ED x 0,82, las pérdidas en el animal están en el rango de 18 a 20% es decir 0.18 a 0.20 por lo tanto el 0,82 es el coeficiente de utilización. Este valor esta expresado en el sistema internacional que considera 1 cal = 4.184 joules, para transformar a Mcal/kg MS se divide este valor por 4,184.

<sup>5</sup> La EN para lactancia esta calculada por la fórmula de la NRC (1988), EN<sub>L</sub> = 0.245 x (%NDT) – 0,12; para expresar este valor en Mcal/kg MS se considera el equivalente de calorías a joules para expresar en MJ.

<sup>6</sup> La calidad de los alimentos es calculada por la metabolicidad (q) = EM/EB,

<sup>7</sup> ES, error estándar de la media.

### **Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS) y materia orgánica (DIVMO), Telly y Terry.**

La DIVMS al día 35 (cuadro 12) resultó el valor más alto comparado con los demás tratamientos 75,73%, lo cual demuestra a la vez una alta diferencia estadística  $p < 0.01$ , la disminución de la digestibilidad es gradual hasta el día 63 con 68,16%, pero al día 70 se produjo una elevación muy considerable a 71,64% que creemos que se debe a la presencia de nuevo material proveniente de la nueva planta lo que ocasionó un incremento con relación al día 63. Estos valores al comparar con los generados en los ensayos de in vivo Guevara (2000), 65,66; 63,42; 62,24; 61,63; 60,61; y 61,46% de digestibilidad de la materia seca para los respectivos tratamientos, se puede deducir que son relativamente altos pero mantienen la misma tendencia de digestión en función a la madurez de la planta, los valores in vivo ajustarán los valores de in vitro mediante la interpretación en una ecuación de regresión. El grado de asociación de la DIVMS con otras variables dentro de la interpretación de los dos métodos para predecir la digestibilidad in vitro se demuestra en el cuadro 13.

La DIVMO de la misma manera tiene una tendencia parecida a la digestibilidad de la materia pero con una alta diferencia significativa  $p < 0,01$ , el valor obtenido al día 35 de 73,71% resultó el de mayor degradación para la MO disminuyendo hasta el día 63 y elevándose a partir del día 70 a 69,90%, de la misma manera la deducción de esta variabilidad estuvo dada por la madurez de la planta, los resultados obtenidos por Guevara (2000) al realizar ensayos in vivo obtuvo 68,47; 66,40; 64,53; 63,39; 63,59 y 63,81% respectivamente para los diferentes tratamientos o estados fenológicos; al comparar estos resultados con los generados en el laboratorio son mayores, pero en la práctica el ajuste se realiza en función de la respuesta animal in vivo. La regresión para predicción de los valores de DIVMO en función de variables de calidad nutritiva y fenológicas se detalla en el cuadro 14.

**CUADRO 12. DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES**

Detalle	Edad, días						ES <sup>1</sup>	p
	35	42	49	56	63	70		
Digestibilidad, DIVMS (Telly y Terry), %	75.73a	73.06b	71.55c	71.95b	68.16d	71.64bc	0,45	0,001
Digestibilidad, DIVMO (Telly y Terry), %	73.71a	71.31b	67.77c	70.47b	64.47d	69.90b	0,57	0,001
Digestibilidad, DIVMSC (Celulasa), %	79.60a	77.00b	74.03d	72.90e	73.32de	76.05c	0,27	0,001
Digestibilidad, DIVMOC (Celulasa), %	79.78a	76.83b	74.39d	73.05e	73.00e	75.51c	0,27	0,001

Promedios con letras iguales en la misma fila no difieren significativamente, Duncan (1955)

<sup>1</sup> ES, error estándar de la media

### **Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMSC) y materia orgánica (DIVMOC), Método Celulasa**

La DIVMSC obtenida en este estudio 79,60% para el día 35 resulto el valor más alto de digestibilidad disminuyendo considerablemente a 73,32% al día 63 y elevándose a 76,05% a partir del día 70, estos datos demuestran por lo tanto una alta diferencia significativa  $P < 0,01$ , reflejando por lo tanto la incidencia de la madurez de planta en la digestión por celulasa, estos valores comparados entre métodos de determinación es decir con los resultados obtenidos por el método Telly y Terry son ligeramente superiores (cuadro 12), la relación comparativa con los resultados de in vivo estudiados por Guevara (2000) son menores a los establecidos en este estudio, pero que en la práctica es necesario corregir los resultados de in vitro con la respuesta obtenida in vivo.

La DIVMOC de la misma manera tiene una tendencia parecida a la digestibilidad de la materia seca pero con una alta diferencia significativa  $p < 0,01$ , el valor obtenido al día 35 de 79,781% resultó el de mayor degradación para la MO disminuyendo hasta el día 63 con 73,00% y elevándose a partir del día 70 con 75,51%, de la misma manera esta variabilidad estuvo dada por la madurez de la planta, los resultados obtenidos por Guevara (2000) al realizar ensayos in vivo obtuvo 68,47; 66,40; 64,53; 63,39; 63,59; y 63,81% de digestibilidad para la materia orgánica para los diferentes tratamientos o estados fenológicos; al comparar estos resultados con los generados en el laboratorio con el método de digestión por celulasa son mayores, pero en la práctica el ajuste se debe realizar en función de la respuesta animal in vivo. Por otro lado para reforzar la interpretación de estos valores López (2000) en estudios de digestión in situ con muestras de alfalfa en la misma edad de corte a las 48 de incubación obtuvo coeficientes de digestibilidad para la MO algo similares a los de DIVMOC, 79,14% para el día 35 con una marcada disminución de 73,03% para el día 63 y similar tendencia de incremento en el día 70 con un valor de 75,81%. La regresión para predicción de los valores de DIVMO se basó en su respectiva correlación entre variables como edad de

corte y digestibilidad de la MS y MO determinada en los dos métodos de laboratorio cuadro 14.

**CUADRO 13. CORRELACIÓN DE LA DIGESTIBILIDAD DE LA MS Y MO  
ENTRE LOS DOS METODOS DE LABORATORIO**

	Día	DIVMS	DIVMO	DIVMSC	DIVMOC
Día	1,000				
DIVMS	-0,757	1,000			
DIVMO	-0,621	0,964	1,000		
DIVMSC	-0,622	0,820	0,765	1,000	
DIVMOC	-0,705	0,868	0,793	0,991	1,000

**CUADRO 14. MODELOS MATEMATICOS PARA PREDECIR LA CALIDAD Y VALOR NUTRITIVO DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES.**

<b>Detalle</b>	<b>ES<sup>1</sup></b>	<b>R2</b>	<b>Sig.</b>
<b>DIGESTIBILIDAD IN VIVO DE LA MATERIA SECA</b>			
DMS(%) = 13,352 + 0,6825 (%DIVMS)	0,755	0,860	0,01
DMS(%) = 15,595 + 0,6214 (%DIVMSC)	0,942	0,782	0,01
<b>DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MATERIA SECA (DIVMS), Telly y Terry</b>			
DIVMS(%) = 79,461 - 0,1418(DIA DE CORTE)	1,793	0,573	0,01
DIVMS = 74,248 - 0,2752(ALTURA DE MERISTEMAS)	1,085	0,844	0,01
DIVMS = 284,07 - 2,3546(%MO)	0,931	0,885	0,01
DIVMS(%) = 119,34 - 1,4928 (%FB)	1,903	0,519	0,01
DIVMS(%) = 41,311 + 1,5572(%PB)	2,235	0,336	0,05
DIVMS(%) = 12,949 + 0,7825(%DIVMSC)	1,572	0,672	0,01
<b>DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MATERIA ORGANICA (DIVMO), Telly y Terry</b>			
DIVMO(%) = 77,506 - 0,1505(DIA CORTE)	2,780	0,386	0,05

<sup>1</sup> ES, error estándar de la media

(Continuación.....)

**CUADRO 14. MODELOS MATEMATICOS PARA PREDECIR LA CALIDAD Y VALOR NUTRITIVO DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES.**

Detalle	ES <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	Sig.
DIVMO(%) = -1,6713 + 0,9443(%DIVMSC)	2,284	0,585	0,01
DIVMO(%) = 327,95 - 2,8678(%MO)	1,641	0,786	0,01
DIVMO(%) = 124,33 - 1,7261(%FB)	2,022	0,675	0,01
DIVMO(%) = 27,673 + 2,1267(%PB)	2,301	0,579	0,01
<b>DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MATERIA SECA (DIVMS), CELULASA</b>			
DIVMSC(%) = - 45,381 + 29,8678(EB, Mcal/kg MS)	1,344	0,781	0,01
DIVMSC(%) = 81,895 - 0,1216(DIA DE CORTE)	2,250	0,387	0,05
DIVMSC(%) = 225,91+ 1,6698(%MO)	2,215	0,406	0,05
DIVMSC(%) = 124,470 - 1,5451(%FB)	1,206	0,824	0,01
DIVMSC(%) = 41,559 + 1,7206(%PB)	1,868	0,577	0,01
DIVMSC(%) = 13,670+ 0,8583(%DIVMS)	1,647	0,672	0,01
<b>DIGESTIBILIDAD IN VITRO DE LA MATERIA ORGANICA (DIVMO), CELULASA</b>			
DIVMOC(%) = - 38,300 + 28,1043(EB, Mcal/kg MS)	1,635	0,681	0,01
DIVMOC(%) = 82,751 - 0,1407(DIA CORTE)		0,498	0,05

<sup>1</sup> ES, error estándar de la media



(Continuación.....)

**CUADRO 14. MODELOS MATEMATICOS PARA PREDECIR LA CALIDAD Y VALOR NUTRITIVO DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES.**

Detalle	ES <sup>1</sup>	R2	Sig.
DIVMOC(%) = 244,350 - 1,8756(%MO)	2,039	0,504	0,01
DIVMOC(%) = 127,190 - 1,6335(%FB)	0,886	0,906	0,01
DIVMOC(%) = 41,662 + 1,7139(%PB)	1,913	0,563	0,01
<b>NUTRIENTES DIGERIBLES TOTALES (NDT)</b>			
NDT(%) = 26,237 + 0,5214(%DIVMS)	1,822	0,382	0,05
NDT(%) = 24,545 + 0,5199(%DIVMSC)	1,770	0,416	0,05
NDT(%) = 38,802 + 0,3587(%DIVMO)	1,935	0,302	0,05
NDT(%) = 22,496 + 0,547(%DIVMOC)	1,689	0,468	0,05
<b>ENERGIA METABOLIZABLE (EM)</b>			
EM(Mcal/kgMS) = 0,6326 + 0,0233(%DIVMS)	0,063	0,504	0,01
EM(Mcal/kgMS) = 1.0937 + 0.0175(%DIVMO)	0,065	0,474	0,05
EM(Mcal/kgMS) = 0.7899 + 0.0202(%DIVMSC)	0,069	0,413	0,05
EM(Mcal/kgMS) = 0.7051 + 0.0213(%DIVMOC)	0,066	0,468	0,05
EM(Mcal/kgMS) = 3.699 - 0.0438(%FB)	0,052	0,673	0,01

<sup>1</sup> ES, error estándar de la media

(Continuación.....)

**CUADRO 14. MODELOS MATEMATICOS PARA PREDECIR LA CALIDAD Y VALOR NUTRITIVO DE LA ALFALFA EN DIFERENTES EDADES**

<b>Detalle</b>	<b>ES<sup>1</sup></b>	<b>R2</b>	<b>Sig.</b>
<b>PRODUCCION DE MATERIA SECA (PDN MS)</b>			
PDN MS(g/m2) = - 59,12 + 11,5340(DIA DE CORTE)	92,528	0,769	0,01
PDN MS(g/m2) = 338,02 + 25,6632(ALTURA DE MERISTEMAS)	122,554	0,595	0,01
<b>ALTURA DE MERISTEMAS</b>			
ALT.MERIST.(cm) = - 11,904 + 0,3814(DIA DE CORTE)	1,520	0,931	0,01
ALT.MERIST.(cm) = 5,1868 + 0,3602(% FLORACION)	2,104	0,869	0,01

<sup>1</sup>ES, error estándar de la media

## CONCLUSIONES

La edad al corte influye de manera directa sobre el comportamiento vegetativo y reproductivo de la alfalfa, en cuanto a la floración en la variedad estudiada presenta una abierta tardía de yemas florales de 11,58% al día 63, lo cual no es un indicador óptimo de cosecha por cuanto la pérdida de hojas es mayor y la relación hoja/tallo (h/t) 0,58 es menor en este intervalo de tiempo comparado con la buena relación de (h/t) en los primeros estadíos. De la misma manera la producción de materia seca fue influenciada por el día de corte, el pico máximo de producción fue para el día 56 (737,86 g/m<sup>2</sup>).

Contrariamente al enfoque productivo la calidad nutritiva de la alfalfa WL se tiene en los primeros intervalos de corte, obteniéndose al día 35 el máximo valor de PB 21,67%, inversamente proporcional a estos valores de calidad se obtuvo la FB siendo de 29,02 a 33,19% en los 35 y 63 días respectivamente. Si relacionamos producción con calidad concluiremos que ha mayor madurez de la planta la calidad se deprime aunque la disponibilidad de MS 737,86 g/m<sup>2</sup> al día 56 justifique de alguna manera frente a la respuesta de calidad en los primeros intervalos de corte.

La digestibilidad in vitro resulto ser una técnica sensible para estimar los cambios de calidad de la alfalfa en función de la edad de corte, además pasaron a constituirse en alternativas para simular procesos digestivos a nivel de laboratorio. Las dos técnicas de in vitro individualmente tienen su fortaleza en sus respectivos procedimientos analíticos. Entre los dos métodos de laboratorio concluiremos que la técnica de digestión Pepsina-Celulasa fue más viable por la reducida utilización de equipos y reactivos, velocidad de respuesta, y por ser económica comparada con la digestibilidad de rutina in vivo e in vitro (Telly y Terry). Pero con las intenciones que crear estándares para corregir la variabilidad de las técnicas de laboratorio se debe realizar correr ensayos in vivo.

El aporte de EB determinada por calorimetría directa de la alfalfa a diferente edad de corte esta alrededor del valor universal de 18,45 MJ sin embargo la digestibilidad determina su variabilidad a medida que avanza la

madurez influyendo de esta manera en la interpretación de la ED, EM y EN, sin embargo se obtuvo la mayor densidad calórica al día 35.

La metabolibilidad de la alfalfa que expresa relativamente calidad del alimento en este estudio a pesar de la diferencia al expresar ED, EM y EN; presenta un valor estable alrededor de 0,53 entre el día 35 al 63 con una caída 0,50 al día 70.

La correlación entre variables de fenología, composición química, valor energético y digestibilidad in vitro han permitido desarrollar modelos matemáticos por medio de la aplicación de regresión lineal, con lo cual se podrá predecir variables botánicas, calidad y valor nutritivo de esta leguminosa en diferente edad.

## RECOMENDACIONES

En dependencia del propósito productivo se debe elegir calidad nutritiva en función de la edad de corte; el ganadero decidirá calidad de forraje al cosechar en los primeros estadíos pero puede disponer de considerable MS conforme avance la madurez de la planta lo cual le proporcionará disponibilidad de MS para proceder a un balance en la formulación de raciones para su ganado.

Los procedimientos de digestibilidad in vitro deben ser utilizados como herramientas básicas en la estimación del valor nutritivo de los forrajes, a esto hay que adicionar la utilización de las ecuaciones matemáticas generadas en esta investigación en forma paulatina no sin antes desarrollar patrones o estándares in vivo.

Para crear resultados efectivos para nuestro entorno sobre composición química, valor energético y nutritivo es necesario profundizar más investigación básica en esta leguminosa lo cual nos ayudará a mejorar la exactitud de la ecuaciones de regresión y así proporcionar la suficiente información a los productores.

## BIBLIOGRAFÍA

- ALLEN, M. 1996. Timing Spring Alfalfa Harvest-The Final Word. manager@cumulus.geo.msu.edu.
- ANTONIEWICZ, A. 1996. Evaluation reliability of solubility in potassium hidroxide solution as an in vitro meted for predicting organig matter digestibility of ruminant feeds. Journal of Animal and Feed Sciences, 5,
- ASSOCIATION RESEARCH COUNCIL. 1980. Feed Evaluation for Ruminants. Prentice Hall. UK.
- BALDWIN, R. 1984. Modeling ruminant digetion and metabolism. Edit. Chapman an Hall. USA.
- BALL, T. 1997. Selection of alfalfa varietes in new Mexico. College of Agriculture and Home Economics, New Mexico State University. USA.
- BERNADETTE, J. et al. 1998. Growth and cultivar on alfalfa digestibility, INRA. Station d' Amélioration des plantes fourrageres, F-86 600 Lusignan, France.
- CRIST, W. 1997. Alflafa management and production, Bulletin. Dept. of Agronomy. University of Kentucky, USA.
- CHURCH, D. 1993. El rumiante, fisiología digestiva y nutrición. Edit. Acribia. Madrid, España.
- DEL POZO, M. 1983. La alfalfa, su cultivo y aprovechamiento. 3ª ed. Edit. Mundi Prensa. Madrid, España.
- ERASO, J. 1985. Prados y Forrajes. 1ª ed. Edit Aedos. Barcelona, España.
- JANSON, C. 1982. Lucerne grazing management research. R.B. Wynn-Williams (ed) lucerne for the 80. Spec. Pub. Agronimic Society of New Zealand, Palmerston North, New Zealand.
- FRAKES, R. 1961. Alfalfa and Alfalfa Improvement. Agronomy Monograph. Texas Tech University. Lubbock, Texas. USA.
- GUEVARA, P. 2000. Digestibilidad in vivo de la alfalfa (Medicago sativa) en diferente estado fenológico. Fac. Ciencias Pecuarias, ESPOCH. Riobamba, Ecuador. . (Tesis de grado por publicar).
- HAYWARD, H. 1972. The estructure of economic plants. The MacMillan Co. New York, USA.

- HODGSON, A. 1976. Revista Argentina de Producción Animal. Edit AAPA. Buenos Aires, Argentina.
- JEWISS, J. 1967. Crop. Geometry and growth physiology in fodder conservation. Edit R. J. WILKINS. Br. Soc. Occ. Symp. 3:53-65.
- JULIER, B. y HUYGHE, C. 1997. Effect of growth and cultinar on alfalfa digestibility in a multi site trial. Agronimic. 17.
- KELLEMS, R. 1998. Livestock feeds and feeding. 4a ed. Edit. Prentice may. New Jersey, USA.
- LEACH. G. 1969. Estimation o digestibility, metabolizable energy and the net energy of forages. Aust. Agron. Res. USA,
- LOFGREEN, G. y GARRET, W. 1968. A system for expressing net energy requirements and feeds values for growing and finishing beef cattle. J. Anim. Sci. 27.
- LOPEZ. K. 1998. Digestibilidad in vivo de la alfalfa (Medicago sativa) a diferente edad en ovinos y efecto del tiempo de corte en la producción. Tesis de grado,.. Fac. Ciencias Pecuarias, ESPOCH. Riobamba, Ecuador.
- LOPEZ, J. 2000. Digestibilidad in situ del heno de alfalfa (Medicago sativa) con diferente edad. Tesis de grado. Fac. Ciencias Pecuarias, ESPOCH. Riobamba, Ecuador.. (No publicado)
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL. 1988. Ruminant Nitrogen Usage. Academy Prenss. Washington DC. USA.
- MAYNARD, L. 1988. Nutrición Animal. 7ª ed. Edit. MacGraw-Hill. México.
- McDONALD, J. 1995. Animal Nutrition. 5ª ed. Edit Prentice Hall. London, UK.
- MOKEYEVA, E. 1980. Biological and Anatomical sudies of alfalfa (Medicago sativa L). Agr. Pub. House of Literature. SSR. Tashkent, 1969.MARTEN, G. et al. Prediction of energy digestibility of forages with in vitro rumen fermetation and fungal enzyme systems. Ottawa, Canada.
- MORGAN, T. 1997. Western Region Alfalfa Hay Production Record, Other Areas Declines, November 5,. info@morgan-consulting.com. USA.
- RUIZ, O. 1998. Curso de posgrado sobre Nutrición y Alimentación de Ganado Lechero. Fac. de Zootecnia. Chihuahua, Chih. México. Riobamba, Ecuador.

- SIMONS. R. 1984. Genotypic differences in alfalfa regrowth. Lethbrige, AB, 15-20 July. North American Alfalfa Improvement Conference. Beltsville, MD. USA.
- SHEAFFER. C. 1988. Cutting Schedules and Stands. Agronomy Monograph. Wisconsin, USA.
- TELLY, J. y TERRY, L. 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. J. Br. Grassld. Soc. 18, 104-111.
- VERONESI, F. et al. 1986. Selection for tolerance to frequent cutting regimes in alfalfa. Crop. Sci. 26:58-61.